

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA FLAVONOID DAUN KELOR
(*Moringa oleofera* L.) DENGAN METODE EKSTRAKSI ULTRASONIK**

SKRIPSI

**OLEH:
PUTRI KURNIA NARASWANIK
NIM. 15630084**



**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2021**

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA FLAVONOID DAUN KELOR
(*Moringa oleofera* L.) DENGAN METODE EKSTRAKSI ULTRASONIK**

SKRIPSI

**Oleh:
PUTRI KURNIA NARASWANIK
NIM. 15630084**

**Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana (S.Si)**

**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2021**

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA FLAVANOID DAUN KELOR
(*Moringa oleofera* L.) DENGAN METODE EKSTRAKSI ULTRASONIK**

SKRIPSI

**Oleh:
PUTRI KURNIA NARASWANIK
NIM. 15630084**

**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal : 22 Juni 2021**

Penguji Utama	: Dr. Akyun Jannah, S.Si. M.P. NIP. 19750410 200501 2 009	 (.....)
Ketua Penguji	: Diana Candra Dewi, M.Si. NIP. 19770720 200312 2 001	 (.....)
Sekretaris Penguji	: Elok Kamilah Hayati, M.Si. NIP. 19790620 200604 2 002	 (.....)
Anggota Penguji	: Ahmad Hanapi, M.Sc NIDT. 19851225 20160801 1 069	 (.....)

**Mengetahui,
Ketua Program Studi**



**Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002**

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA FLAVANOID DAUN KELOR
(*Moringa oleofera* L.) DENGAN METODE EKSTRAKSI ULTRASONIK**


SKRIPSI

**Oleh:
PUTRI KURNIA NARASWANIK
NIM. 15630084**

**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal : 22 Juni 2021**

Penguji Utama	: Dr. Akyun Jannah, S.Si. M.P. NIP. 19750410 200501 2 009	 (.....)
Ketua Penguji	: Diana Candra Dewi, M.Si. NIP. 19770720 200312 2 001	 (.....)
Sekretaris Penguji	: Elok Kamilah Hayati, M.Si. NIP. 19790620 200604 2 002	 (.....)
Anggota Penguji	: Ahmad Hanapi, M.Sc NIDT. 19851225 20160801 1 069	 (.....)

**Mengetahui,
Ketua Program Studi**


**Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002**

PERNYATAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Putri Kurnia Naraswanik

NIM : 15630084

Jurusan : Kimia

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Daun Kelor
(*Moringa oleifera* L.) dengan Metode Ekstraksi Ultrasonik

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 21 Juni 2021
Yang Membuat Pernyataan,



Putri Kurnia Naraswanik
NIM. 15630084

MOTTO

“Ubahlah hidupmu mulai hari ini. Jangan bertaruh di masa depan nanti, bertindaklah sekarang tanpa menunda-nunda lagi.”

“Hiduplah seakan-akan esok mati”

“Ingatlah Allah saat hidup tak berjalan sesuai keinginanmu, Allah pasti punya jalan lebih baik untukmu

PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirobbilalamin Puji Syukur Kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunianya sehingga bisa terselesaikan karya sederhana ini. Saya Persembahkan dengan segala kerendahan hati skripsiku ini kepada orang-orang yang kusayangi sebagai tanda bakti, hormat, dan rasa terimakasih.

Kepada almarhummah Ibuku Djunik Astuti yang selama hidupnya telah memberikan segala kekuatannya dan doa dan kasih sayang yang tidak tergantikan, Ayahku Teguh Aribowo yang telah memberikan segala bentuk dukungan, nasehat dan doa, Ibuku Ana Ismawati, Kakakku Reina dan Relita, terimakasih yang memberikan semangat, dukungan dan nasihat. Semoga selalu diberi keberkahan Allah SWT. Aamiin.

Kepada seluruh dosen, staf laboran dan administrasi jurusan kimia yang selalu memberikan bimbingan, nasehat, dan motifasi yang sangat berarti. Sehingga saya telah menyelesaikan seluruh pembelajaran S-1 dengan baik. Terutama kepada Ibu

Elok Kamilah Hayati selaku dosen pembimbing dan juga Ibu Anik Maunatin selaku dosen wali. Semoga kebaikan bapak ibu semuanya mendapat balasan yang lebih baik dari Allah SWT. Aamiin.

Tak lupa untuk teman temanku seperjuangan di lab analitik (Ella, amila, Nyun, Sukria, Devi, Budi, Mbak Echa, Mbak Claudia). Teman suka dan duka Sonia, Ismawati, Devi, Aulia, Mazyah. Sahabatku Ridho, dan partnerku Edo. Terimakasih juga semua teman-temanku kimia 2015 khususnya kelas C dan masih banyak yang belum disebutkan terimakasih sudah memberiku bantuan, nasihat, dan motivasi selama masa sulitku. Trimakasih sudah hadir dan mengajariku arti kebersamaan dan ketulusan. Aku bersyukur bertemu kalian. Aku beruntung kenal kalian. Semoga nanti kita dipertemukan dengan keadaan sehat dan sukses semua. Aamiin.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT. Atas segala ridho-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi penelitian dengan judul **“Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Daun Kelor (*Moringa Oleofera* L.) Dengan Metode Ekstraksi Ultrasonik”**. Sholawat dan salam semoga tetap tercurahkan kepada junjungan Rasulullah SAW. Selanjutnya penulis mengucapkan terimakasih seiring bantuan dan doa kepada semua pihak yang telah membantu terselesainya penelitian ini. Ucapan terimakasih ini penulis sampaikan kepada:

1. Bapak dan ibu tercinta telah dan akan tetap memberikan banyak nasihat, doa, dan dukungan baik moril maupun materil yang tak mungkin terbalaskan beserta keluarga penyusun.
2. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si, selaku dosen pembimbing dan juga selaku ketua Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan bimbingan, pengarahan dan nasehat kepada penyusun dalam menyelesaikan skripsi ini.
3. Bapak Ahmad Hanapi, S.Si., M.Sc selaku dosen pembimbing agama yang telah memberikan semangat, saran, serta motivasi yang membangun serta bermanfaat dalam menyelesaikan skripsi ini.
4. Seluruh dosen serta laboran Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah mengalirkan ilmu, pengetahuan, pengalaman, dan wawasannya sebagai pedoman dan bekal bagi penyusun.

5. Teman-teman Kimia C khususnya Sonia, Isma, dan Aulia yang telah menemani selama proses belajar, memberikan motivasi, dukungan selama suka dan duka pada penulis selama proses pembelajaran.
6. Teman-teman tim penelitian yang telah meluangkan waktu untuk membantu, mendukung, dan menemani selama proses penelitian.
7. Semua rekan-rekan dan semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu atas segala bantuan dan motivasinya kepada penyusun.

Akhirnya dengan memohon Ridho Allah SWT, semoga Allah SWT melimpahkan Rahmat dan balasan kepada semua pihak yang telah membantu menyelesaikan skripsi. Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu kritik serta saran atas kekurangan laporan hasil penelitian ini akan diterima dengan senang hati.

Malang, 25 Maret 2021

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
MOTTO	v
HALAMAN PERSEMBAHAN	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
ABSTRAK	xiv
ABSTRACT	xv
مستخلص البحث	xvi
 BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Batasan Masalah	5
1.5 Manfaat Penelitian	5
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Tumbuhan Kelor (<i>Moringa oleifera</i> L.)	6
2.2 Senyawa Bioaktif Daun Kelor	8
2.3 Ekstraksi Ultrasonik	10
2.4 Fraksinasi dengan Etil Asetat	12
2.5 Uji Fitokimia Senyawa Flavanoid	13
2.6 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	13
2.7 Identifikasi Senyawa Aktif Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis	15
2.8 Identifikasi Senyawa Aktif Menggunakan Spektrofotometer FTIR	16
 BAB III METODOLOGI PENELITIAN	19
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	19
3.2 Alat dan Bahan	19
3.2.1 Alat	19
3.2.2 Bahan	19
3.3 Tahapan Penelitian	20
3.4 Pelaksanaan Penelitian	20
3.4.1 Preparasi Sampel	20
3.4.2 Analisis Kadar Air Daun Kelor.....	20
3.4.3 Ekstraksi Ultrasonik Serbuk Daun Kelor	21
3.4.4 Fraksinasi dengan Etil Asetat.....	21
3.4.5 Uji Fitokimia Senyawa Flavanoid.....	22
3.4.6 Pemisahan Senyawa Flavanoid Golongan Kuersetin dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	22

3.4.7	Identifikasi Senyawa Aktif menggunakan Spektrofotometer UV-Vis	23
3.4.8	Identifikasi Senyawa Aktif menggunakan Spektrofotometer FTIR	24
3.4.9	Analisis Data	24
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		25
4.1	Preparasi Sampel	25
4.2	Analisis Kadar Air	25
4.3	Ekstraksi Ultrasonik	26
4.4	Fraksinasi Etil Asetat Daun Kelor	29
4.5	Uji Fitokimia Senyawa Flavanoid Ekstrak Kasar Daun Kelor	30
4.6	Pemisahan Senyawa Flavanoid Golongan Kuersetin Daun Kelor dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	31
4.7	Identifikasi Senyawa Aktif menggunakan UV-Vis	34
4.8	Identifikasi Senyawa Aktif Menggunakan FTIR	36
4.9	Pemanfaatan Daun Kelor dalam Prespektif Islam	39
BAB V PENUTUP		42
5.1	Kesimpulan	42
5.2	Saran	42
DAFTAR PUSTAKA		43
LAMPIRAN		49

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Daun Kelor	7
Gambar 2.2	Struktur Kuersetin	9
Gambar 2.3	Spektra FT-IR kuersetin hasil isolasi	17
Gambar 2.4	Spektra FTIR Kuersetin Murni	17
Gambar 4.1	Hasil Uji Flavanoid	31
Gambar 4.2	Dugaan reaksi antara senyawa flavanoid dengan logam Mg dan HCl pekat	32
Gambar 4.3	Perbandingan hasil pemisahan kuersetin di bawah lampu UV 366 nm menggunakan eluen metanol:kloroform:n-hexan (7:2:1) terhadap ekstrak kasar daun kelor (A), fraksi etil asetat (B), dan standar kuersetin (C).....	33
Gambar 4.4	Spektra UV-Vis isolat daun kelor	35
Gambar 4.5	Spektrogram hasil FTIR isolat dugaan flavanoid golongan kuersetin	37
Gambar 4.6	Spektrogram hasil FTIR standar kuersetin	37

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Serapan FT-IR pada kuersetin.....	18
Tabel 4.1 Perbandingan intensitas warna dibawah lampu UV 366 nm pada beberapa sampel	32
Tabel 4.2 Hasil Uji KLT dengan Eluen Metanol : Kloroform : N-hexan (7:2:1) ..	33
Tabel 4.3 Panjang gelombang maksimum isolat	35
Tabel 4.4 Interpretasi Isolat dugaan kuersetin	38

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan	49
Lampiran 2 Diagram Alir	50
Lampiran 3. Perhitungan.....	55
Lampiran 4. Dokumentasi.....	61

ABSTRAK

Naraswanik, P.K. 2021. **Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Daun Kelor (*Moringa Oleofera* L.) Dengan Metode Ekstraksi Ultrasonik.** Skripsi. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Elok Kamilah Hayati, M.Si; Pembimbing II: Ahmad Hanapi, S.Si, M.Sc.

Kata kunci : Daun kelor (*Moringa oleifera* L.), Flavonoid kuersetin, KLT, UV-Vis, FTIR

Kelor (*Moringa oleifera* L.) merupakan tanaman yang mengandung berbagai senyawa aktif yang terbukti secara alamiah memiliki banyak manfaat. Komponen bioaktif utama kelor merupakan senyawa kuersetin yang termasuk golongan flavonoid dan memiliki peran sebagai antiinflamasi. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui hasil pemisahan senyawa flavonoid fraksi etil asetat daun kelor dengan kromatografi lapis tipis (KLT).

Ekstraksi senyawa flavonoid golongan kuersetin menggunakan metode ekstraksi yang lebih efektif yaitu dengan bantuan ultrasonik agar memperoleh kandungan senyawa flavonoid golongan kuersetin yang lebih tinggi dengan waktu yang relatif singkat. Ekstraksi ultrasonik dilakukan dengan pelarut etanol selama 30 menit dan dilakukan pemisahan dengan fraksinasi menggunakan pelarut etil asetat. Pemisahan senyawa kuersetin menggunakan eluen metanol : kloroform : n-Hexan (7:2:1). Identifikasi gugus fungsi hasil KLT dibandingkan dengan standar kuersetin menggunakan UV-Vis dan FTIR.

Rendemen yang dihasilkan pada ekstrak kasar daun kelor dengan metode ultrasonik adalah 8,87%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat salah satu noda yang dihasilkan pada uji KLT sama dengan noda dari standar kuersetin. Noda berwarna kuning berada pada R_f 0,666 untuk ekstrak kasar dan 0,687 untuk fraksi etil asetat hampir sama dengan noda standar kuersetin R_f 0,662. Hasil identifikasi isolat dugaan kuersetin dengan UV-Vis menunjukkan panjang gelombang maksimum 370,1 nm dengan transisi elektron $\pi - \pi^*$ dari ikatan C=C terkonjugasi dan panjang gelombang 256,0 nm dengan transisi elektron $n - \pi^*$ dari ikatan C=O. Hasil identifikasi isolat kuersetin dengan FTIR menunjukkan gugus fungsi berupa C-H alifatik, C-H aromatik, C=O, C=C aromatik, C-O, dan O-H.

ABSTRACT

Naraswanik, P.K. 2021. **Isolation and Identification of Moringa Leaf Flavonoids Compounds (Moringa Oleofera L.) Using Ultrasonic Extraction Method. Thesis.** Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Maulana Malik Ibrahim State Islamic University of Malang. Adviser I: Elok Kamilah Hayati, M.Si; Adviser II: Ahmad Hanapi, M.Sc

Keywords : Moringa oleifera L. leaves, Flavanoid quercetin, TLC, UV-Vis, FTIR

Moringa (*Moringa oleifera* L.) is a plant that contains various active compounds that are naturally proven to have many benefits. The main bioactive component of Moringa is quercetin which belongs to the flavonoid group and has an anti-inflammatory role. The purpose of this study was to determine the results of the separation of flavonoid compounds from the ethyl acetate fraction of Moringa leaves by thin layer chromatography (TLC).

Extraction of quercetin group flavanoid compounds using a more effective extraction method, namely with ultrasonic assistance in order to obtain a higher content of quercetin group flavanoid compounds in a relatively short time. Ultrasonic extraction was carried out with ethanol for 30 minutes and separated by fractionation using ethyl acetate as solvent. Separation of quercetin compounds using methanol eluent: chloroform: n- Hexan (7:2:1). Identification of functional groups TLC results were compared with standard quercetin using UV-Vis and FTIR.

The yield of the crude extract of Moringa leaves by ultrasonic method is 8.87%. The results showed that one of the stains produced in the TLC test was the same as that of the quercetin standard. The results showed that one of the stains produced in the TLC test was the same as that of the quercetin standard. The identification results of the quercetin prediction isolate with UV-Vis showed a maximum wavelength of 370.1 nm with an electron transition of $\pi - \pi^*$ from the conjugated C = C bond and a wavelength of 256.0 nm with an electrical transition $n - \pi^*$ of the C = O bond. The results of the identification of quercetin isolates by FTIR showed that the functional groups were aliphatic C-H, aromatic C-H, C = O, C = C aromatic, C-O, and O-H.

الكلمات الرئيسية: الفانيولين، p -الأنيسيدينا، الليمون، قاعدة شيف، توليف الأخضر

وأظهرت النتائج أن مجمع قاعدة شيف له خصائص فيزيائية لأخضر ملون مع نقطة انصهار من 130-132 درجة مئوية في المنتج مع حجم مخفر 2 مل. أكبر عائد تم الحصول عليه بحجم مخفر 2 مل هو 96,89%. تشير نتائج KLT إلى أن كل منتج والمواد المتفاعلة تنتج 1 بقعة رمادية اللون إلى الأسود (254 نانومتر) والأصفر على المنتج، رمادي في المواد الاستجابة الفانيليا، والبي البني في *p*-الأنيسيدينا (366 نانومتر) المتفاعلات، مع قيمة R_f من 0,83625-0,79875 على المنتج، 0,78125 على الفانيلين، و 0,75 في *p*-الأنيسيدينا. تشير نتيجة التوصيف باستخدام FT-IR إلى الامتصاص النموذجي لمجموعة $C=N$ على الطول الموجي 1624,71-1622,75 cm^{-1} . تشير نتائج التوصيف باستخدام GC-MS على منتج بأعلى عائد إلى مركب شيف الأساسي الذي يظهر في وقت الاحتفاظ بـ 26,742 دقيقة مع m/z من 257 والذي يتوافق مع الوزن الجزيئي للمركب المستهدف 2-ميثوكسي-4-[4-(ميثوكسيفينيل)ميثيل]-الفينول. وأظهرت نتائج التوصيف باستخدام 1H -NMR تداخل مجموعة $C=N$ في تحول كيميائي قدره 8,3646 جزء في المليون (1H , 5).

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tumbuhan dapat berpotensi sebagai pengobatan penyakit karena mengandung senyawa metabolit sekunder. Seiring dengan kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi dalam bidang kimia organik terbukti bahwa tumbuhan-tumbuhan tertentu mengandung senyawa kimia yang penting bagi kesehatan manusia. Kelor (*Moringa oleifera* L.) merupakan tanaman yang mengandung berbagai senyawa aktif yang terbukti secara alamiah memiliki sumber gizi berkhasiat obat yang kandungannya diluar kebiasaan kandungan tanaman pada umumnya (Krisnadi, 2015).

Allah SWT telah menciptakan berbagai macam tumbuhan yang baik di muka bumi ini sebagaimana yang telah difirmankan di dalam al-Qur'an surah Asy-Syu'araa' (26):7.

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

Artinya : “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik (Q.S. AsySyu'ara : 7).”

Tumbuhan yang baik tersebut diartikan bahwa tumbuhan yang subur dan memiliki manfaat. Allah SWT telah menciptakan tumbuh-tumbuhan tersebut memiliki manfaat yang dapat diambil, seperti untuk obat-obatan. Salah satu tanaman yang berdasarkan *ethnomedicine* telah terbukti berkhasiat sebagai antikanker adalah daun kelor (*Moringa oleifera* L.) (Andjani, dkk., 2016). Selain itu, ekstrak dari tanaman daun kelor memiliki khasiat sebagai antiinflamasi,

antioksidan, antimikroba, antivirus, antitumor, dan antikanker (Leone, dkk., 2015).

Untuk mempelajari manfaat tanaman kelor dalam perkembangan teknologi pengobatan berbagai jenis penyakit, maka diperlukan data mengenai kandungan zat aktif yang memberi pengaruh terhadap pengobatan berbagai penyakit dan digunakan untuk kesehatan. Penelitian tentang daun kelor yang dilakukan oleh (Rohyani, 2015) menunjukkan bahwa hasil skrining fitokimia dari daun kelor mengandung senyawa metabolit sekunder diantaranya flavonoid, alkaloid, steroid, tanin, saponin, dan antokuinon. Selain itu (Lutfiana, 2013) dari hasil penampisan fitokimia fraksi etil asetat daun kelor mengandung senyawa flavonoid, saponin dan tanin. Dari hasil kedua penelitian tersebut membuktikan bahwa daun kelor mengandung senyawa metabolit sekunder dan salah satunya adalah senyawa flavonoid.

Daun kelor mengandung senyawa bioaktif golongan flavonoid diantaranya kuersetin, kaempferol dan mirisitin yang diduga memiliki efek sebagai antikanker (Leone, dkk. 2015) Kuersetin termasuk dalam golongan flavonoid yang merupakan komponen bioaktif utama kelor dan memiliki peran sebagai antiinflamasi (Coppin, dkk., 2013). Menurut Sulistyawati, dkk., (2017) bahwa kadar kuersetin dalam fraksi etil asetat daun kelor (FEDK) memiliki nilai sebesar 3,35%. Pada penelitian Ali, Hassan, dan Abdrabou (2015) bahwa, senyawa kuersetin ditemukan pada daun kelor (*Moringa oleifera* L.) kering dengan konsentrasi sebesar 100 mg/100g.

Senyawa bioaktif pada daun kelor dapat diperoleh dengan metode ekstraksi ultrasonik. Prinsip ekstraksi ini memanfaatkan gelombang ultrasonik yang

ditransmisikan melalui pelarut untuk menyebabkan kavitasi mikro pada sekeliling bahan yang akan diekstraksi, sehingga akan terjadi pemanasan yang akhirnya melepaskan senyawa ekstrak (Januarti, dkk., 2015). Kelebihan dari ekstraksi ini yaitu memiliki efisiensi lebih besar, waktu operasi lebih cepat dan laju perpindahan massa lebih cepat dibandingkan dengan ekstraksi konvensional (Hartuti dan Supardan, 2013).

Pemilihan pelarut dalam proses ekstraksi perlu diperhatikan, seperti selektifitas, sifat racun dan kemudahannya untuk diuapkan. Alkohol merupakan pelarut yang baik untuk ekstraksi pendahuluan (Harborne, 1996), sehingga pada penelitian ini menggunakan pelarut etanol dalam proses ekstraksi. Etanol merupakan pelarut universal yang mampu mengisolat senyawa yang diinginkan, baik senyawa yang bersifat polar, semi polar, maupun non polar. Ekstrak yang diperoleh akan dilakukan pemisahan kembali dengan menggunakan metode fraksinasi. Tujuan fraksinasi ini untuk mendapatkan senyawa-senyawa yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda (Djarwis, 2004).

Hasil fraksi dilanjutkan dengan pemurnian menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT). Menurut (Suhendi 2011) pada penelitiannya hasil elusi dengan eluen butanol : asam asetat : air (4:1:5) pada fraksi etil asetat daun dewandaru didapatkan dua bercak yang memiliki flavonoid dengan R_f 0,75 dan R_f 0,625. Pada buah labu juga menghasilkan dua bercak yang merupakan flavonoid kuersetin dengan R_f 0,63 dan R_f 0,81 menggunakan eluen metanol : kloroform : n-heksana (7:2:1) (Gwatidzo, Dzomba, dan Mangena, 2018). Senyawa kuersetin dapat diidentifikasi dengan analisa menggunakan spektrofotometer FTIR. Adanya senyawa kuersetin ditunjukkan dengan puncak gugus O-H

regangan pada daerah 3409 cm^{-1} , regangan C=O pada daerah 1668 cm^{-1} , aromatik C=C pada daerah 1523 cm^{-1} , dan C-O pada daerah 1168 dan 1096 cm^{-1} (Zaini, 2006).

Berdasarkan pemaparan diatas, maka dilakukan isolasi dengan optimasi pemisahan senyawa dengan metode ekstraksi ultrasonik menggunakan pelarut etanol yang kemudian di fraksinasi cair-cair menggunakan etil asetat. Pemurnian dilanjutkan dengan kromatografi lapis tipis (KLT) yang menggunakan eluen metanol : kloroform : n-hexan (7:2:1). Hasil isolat yang terbaik diidentifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana pemisahan senyawa flavonoid fraksi etil asetat daun kelor dengan kromatografi lapis tipis (KLT)?
2. Bagaimana identifikasi senyawa aktif yang terdapat pada hasil fraksinasi daun kelor (*Moringa oleifera* L.) dengan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui hasil pemisahan senyawa flavonoid fraksi etil asetat daun kelor dengan kromatografi lapis tipis (KLT).
2. Untuk mengetahui hasil identifikasi senyawa aktif yang terdapat pada hasil fraksinasi daun kelor (*Moringa oleifera* L.) dengan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR.

1.4 Batasan Masalah

1. Sampel yang digunakan adalah tanaman kelor (*Moringa oleifera*. L.) bagian daun.
2. Metode pemisahan yang digunakan adalah ekstraksi ultrasonik dan metode fraksinasi cair-cair.
3. Eluen yang digunakan adalah campuran metanol:kloroform:n-hexan (7:2:1).
4. Identifikasi golongan senyawa aktif menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR.

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini dapat memberikan informasi tentang kandungan senyawa metabolit sekunder flavonoid jenis kuersetin yang terdapat pada daun kelor dan memiliki banyak manfaat sebagai referensi untuk penelitian selanjutnya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tumbuhan Kelor (*Moringa oleivera*. L)

Tumbuh-tumbuhan yang berada di muka bumi diciptakan oleh Allah SWT memiliki manfaat untuk kemaslahatan makhluk-Nya. Sebagaimana yang telah disebutkan dalam Al-Quran surat Thaha ayat 53:

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَّكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ
مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِّنْ نَّبَاتٍ شَتَّى (٥٣)

Artinya : “Yang telah menjadikan bagimu bumi sebagai hamparan dan yang telah menjadikan bagimu di bumi jalan-jalan, dan menurunkan dari langit air hujan, maka kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuhan-tumbuhan yang bermacam-macam” (QS. Thaha:53).

Allah SWT telah menurunkan air hujan dan menumbuhkan berbagai macam dari tumbuh-tumbuhan. Lafadz نَبَاتٍ شَتَّى memiliki makna yaitu tumbuhan yang diciptakan bermacam-macam jenis, bentuk, warna, rasa dan manfaat (Shihab, 2002). Hal ini merupakan nikmat Allah SWT yang diberikan kepada setiap makhluk ciptaannya. Salah satu tanaman yang bermanfaat adalah tumbuhan kelor.

Kelor merupakan tanaman dalam famili *Moringaceae*. Kelor tumbuh di daerah tropis dan subtropis seperti Vietnam, Sri Lanka, India, Malaysia, Thailand dan Indonesia. Tanaman ini sudah sejak lama dimanfaatkan sebagai bahan makanan ternak, makanan tradisional serta sebagai bahan obat-obatan tradisional (Stohs, Kaats & Preuss, 2016).

Tanaman kelor memiliki akar tunggang yang bercabang atau serabut dan dapat mencapai kedalaman 5-10 meter (Leone, dkk., 2015). Tinggi tanaman kelor dapat mencapai 7-12 meter yang termasuk jenis batang berkayu sehingga batangnya kuat dan keras. Daun kelor termasuk dalam jenis daun bertangkai karena hanya terdiri atas tangkai dan helai saja. Daun kelor berbentuk bulat telur dengan panjang dan lebar 1-2 cm. Buah berbentuk segitiga memanjang hingga 20-60 cm. Dalam setiap buah rata-rata berisi 12-15 biji. Biji berbentuk bulat dengan berat rata-rata per biji adalah 0,3 g (Krisnadi, 2015).



Gambar 2.1 Daun kelor (Leone, dkk., 2015)

Tanaman kelor dapat diklasifikasikan sebagai berikut (Stenis, 2008):

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: Magnoliopsida (Berkeping dua / dikotil)
Sub Kelas	: Dilleniidae
Ordo	: Capparales
Famili	: Moringaceae
Genus	: <i>Moringa</i>
Spesies	: <i>Moringa oleifera</i> Lamk.

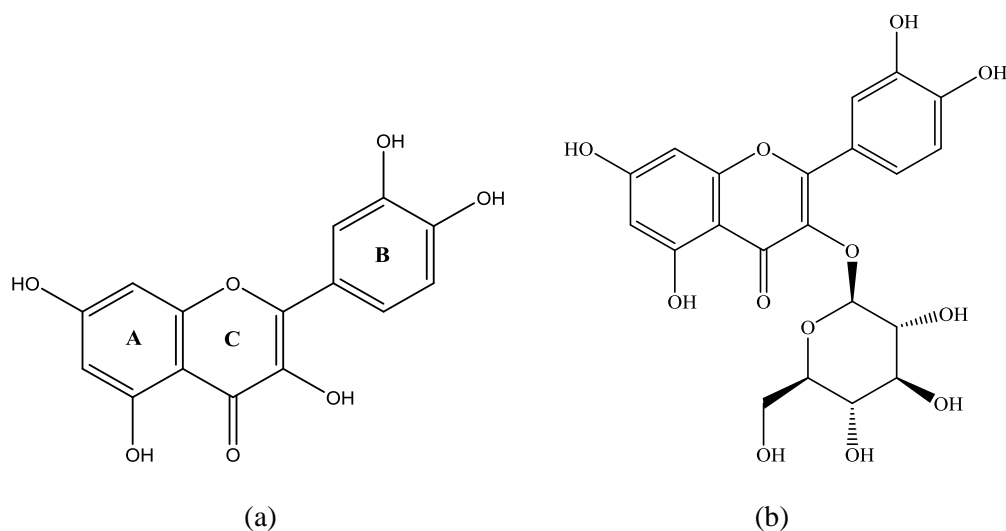
Komposisi kimia daun kelor diantaranya adalah kadar air sebesar 94,01%, protein 22,7%, lemak 4,65%, karbohidrat 51,66%, serat 7,92% dan kalsium 350-550 mg (Aminah, Ramadhan & Yanis, 2015). Pada penelitian Anwar dkk (2014) Kadar air daun kelor kering 7,316 %, Selain itu daun kelor juga menganung metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid, steroid, tanin, triterpenoid dan saponin (Dwipayana, Elsyana & Tutik, 2018). Berdasarkan kandungan senyawa bioaktif tersebut beberapa penelitian telah melaporkan bahwa daun kelor memiliki berbagai efek farmakologi diantaranya memiliki aktivitas antioksidan, antiinflamasi, dan antikanker (Gaffar, Apriani & Herlina, 2018).

2.2. Senyawa Bioaktif Daun Kelor

Kuersetin merupakan senyawa aktif utama pada daun kelor (Sulistiyawati, dkk., 2017). Menurut Alethea dan Ramadhian (2015) bahwa, kuersetin pada daun tanaman kelor mencapai 1494,2 $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ berat kering. Kuersetin memiliki titik lebur 310°C sehingga tahan terhadap pemanasan. Kuersetin adalah metabolit sekunder polifenolik yang termasuk flavonol terbesar dengan kandungan kuersetin dan glikosidanya berada dalam jumlah sekitar 60-75% dari flavonoid. Kuersetin yang termasuk dalam golongan flavonoid tersebut ditandai dengan benzo-(γ)-struktur kerangka piron dengan kerangka karbon C6-C3-C6, yang terdiri dari dua cincin benzena A dan B, dan dihubungkan oleh cincin piron tiga karbon C. Struktur kuersetin ditampilkan pada Gambar 2.2.

Kuersetin disebut sebagai penta hidroksil flavanol karena adanya lima gugus hidroksil pada krangka flavanol yang terletak pada karbon 3,3',4',5,dan 7 (Khan, dkk., 2016). Kelompok senyawa flavonoid polifenol merupakan golongan senyawa polar, namun memiliki sifat kelarutan rendah dalam air dan lebih larut

pada senyawa alkohol dan pelarut organik (Syofyan, dkk., 2008). Kuersetin pada tanaman biasanya berada dalam bentuk glikosida dan dapat pula bentuk aglikonnya. Kuersetin pada daun kelor ditemukan sebagai kuersetin-3-O- β -glukosida atau disebut isokuersetin atau isotrifolin (Vergara-Jimenez, Almatrafi, & Fernandez, 2017).



Gambar 2.2 (a) Struktur Kuersetin, (b) Struktur Kuersetin-3-O- β -glukosida

(Leone, dkk., 2015; Desai dan Tatke, 2015)

Kuersetin merupakan senyawa bioaktif yang mengandung antioksidan yang tinggi, sehingga dapat digunakan sebagai pencegahan kanker dan menjadi penghambat yang kuat pada pertumbuhan sel kanker payudara, usus, paru-paru, dan ovarium (Kakran, dkk., 2011). Kuersetin memiliki aktivitas antioksidan karena memiliki gugus hidroksil yang dapat mendonorkan atom hidrogen kepada senyawa radikal bebas dan menstabilkan senyawa oksigen reaktif (ROS) (Hardianti, 2015) yang dimungkinkan oleh komponen fenoliknya yang sangat reaktif (Vargas dan Burd, 2010). Berbagai penelitian *in vitro* telah menunjukkan bahwa kuersetin berperan penting dalam pencegahan kanker dan penindasan

tumor pada garis sel yang berbeda. Dosis kuersetin yang menunjukkan efek antikanker secara *in vitro* berkisar antara 3-5 μM .

2.3. Ekstraksi Ultrasonik

Ekstraksi ultrasonik adalah pemanfaatan efek gelombang ultrasonik sebesar 16-20 kHz untuk mempengaruhi perubahan-perubahan yang terjadi pada proses kimia (Hartuti dan Supardan, 2013). Keunggulan dari ekstraksi ultrasonik adalah proses ekstraksi berlangsung lebih cepat dibandingkan dengan ekstraksi termal atau konvensional, lebih aman, efisiensi waktu lebih tinggi, dapat digunakan pada ekstraksi bahan yang tidak tahan panas. Selain itu, ekstraksi ultrasonik ini dapat meningkatkan angka rendemen ekstrak kasar (Handayani, dkk., 2016).

Prinsip dasar dari ekstraksi ultrasonik adalah dengan memanfaatkan gelombang ultrasonik yang ditransmisikan oleh pelarut untuk menyebabkan kavitasi mikro pada sekeliling bahan yang akan diekstraksi, kemudian terjadi pemanasan dan akan melepaskan senyawa ekstrak. Efek mekanik yang ditimbulkan adalah memecah dinding sel tanaman sekaligus meningkatkan transfer massa, sehingga senyawa fitokimia yang terkandung didalam tanaman lebih banyak berdifusi. Proses kavitasi akan meningkatkan polaritas sistem termasuk zat yang dicari dan pelarut. Semakin banyak jumlah pelarut yang kontak dengan zat yang dicari, maka akan menimbulkan proses plasmolisis yang menyebabkan zat aktif keluar sel dan memaksimalkan hasil rendemen ekstrak (Anam, 2010).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa penerapan gelombang ultrasonik mampu mengekstrak senyawa fitokimia seperti alkaloid, flavonoid, polisakarida,

protein dan minyak esensial dari berbagai macam tanaman (Handayani, 2016). Menurut Sharifi, Mahernia & Amanlou (2017) mengatakan bahwa metode ekstraksi ultrasonik merupakan metode yang paling efektif dan praktis dibandingkan dengan metode ekstraksi maserasi dan sixhlet. Ekstraksi ultrasonik biasa digunakan untuk mengekstraksi flavonoid seperti kuersetin dari tanaman obat. Pada penelitian Susanty dkk (2019) bahwa ekstraksi ultrasonik menghasilkan rendemen lebih tinggi yaitu 6,423% dibanding dengan ekstraksi perkolasi 3,525%.

Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi harus mempertimbangkan banyak faktor. Syarat dalam menentukan pelarut untuk ekstraksi ini yaitu sifat kelarutan zat didasarkan pada teori *like dissolve like*, zat yang bersifat polar akan larut dalam pelarut polar dan zat yang bersifat non polar akan larut dalam pelarut non polar (Khopkar, 2003). Secara umum pelarut golongan alkohol merupakan pelarut yang paling banyak digunakan pada proses isolasi senyawa organik bahan alam, karena dapat melarutkan seluruh senyawa metabolit sekunder (Lenny, 2006). Pada penelitian Dwipayana dkk (2018) ekstraksi daun kelor rendemen terbaik menggunakan pelarut etanol yaitu sebesar 12,69%, pelarut n-heksan 4,76%, dan pelarut etil asetat 8,73%.

Pelarut yang digunakan untuk mengekstrak senyawa kuersetin pada daun kelor adalah etanol. Hal tersebut dikarenakan etanol memiliki titik didih yang cukup rendah sehingga mudah diuapkan dan tidak membutuhkan suhu yang tinggi, bersifat inert, dapat melarutkan senyawa yang sesuai dan harganya terjangkau (Guenther, 2006). Selain itu senyawa kuersetin tidak mudah larut dalam air namun dapat larut dalam pelarut alkohol atau pelarut organik (Syofyan,

dkk., 2008). Pada penelitian ini menggunakan pelarut etanol 96% dengan waktu ekstraksi 30 menit. Menurut Liao, Qu & Zheng (2016), efisiensi ekstraksi ultrasonik kuersetin meningkat secara signifikan dengan meningkatnya konsentrasi etanol. Hasil ekstraksi meningkat pesat dalam 30 menit pertama namun dengan ditambahnya waktu ekstraksi hingga 50 menit, hanya sedikit peningkatan hasil ekstraksi.

2.4. Fraksinasi dengan Etil Asetat

Fraksinasi adalah proses pemisahan komponen-komponen dalam ekstrak berdasarkan perbedaan tingkat kepolaran. Pada prinsipnya senyawa polar diekstraksi dengan senyawa polar, sedangkan pelarut non polar diekstraksi dengan senyawa non polar (Saifuddin, 2006).

Ekstraksi cair-cair merupakan salah satu metode fraksinasi. Tujuannya dari ekstraksi ini adalah memperoleh ekstrak yang lebih spesifik sifat kepolarannya. Prinsip dari ekstraksi cair-cair didasarkan pada sifat kelarutan komponen target dan distribusinya dalam dua pelarut (pelarut organik dan air) yang tidak saling bercampur, yakni sebagian komponen larut pada fase pertama dan sebagian larut pada fase kedua. Syarat pelarut untuk ekstraksi cair-cair adalah memiliki kepolaran yang sesuai dengan bahan yang diekstraksi dan harus terpisah secara pengocokan yang ditandai dengan terbentuknya dua lapisan yang tidak saling campur (Khopkar, 2008).

Pelarut organik yang dipilih untuk ekstraksi adalah pelarut yang mempunyai kelarutan rendah dalam air ($< 10\%$), dapat menguap sehingga memudahkan penghilangan pelarut organik setelah dilakukan ekstraksi dan memiliki kemurnian yang tinggi untuk meminimalkan adanya kontaminasi sampel

(Rohman dan Gandjar, 2007). Pelarut yang digunakan pada penelitian ini adalah etil asetat, pada penelitian Sulistyawati dkk. (2017) tentang standarisasi kualitas fraksi etil asetat daun kelor (FEDK) diperoleh kadar kuersetin dalam FEDK sebesar 3,35%.

2.5. Uji Fitokimia Senyawa Flavonoid

Uji fitokimia merupakan pengujian kandungan senyawa aktif yang terdapat dalam tumbuhan. Golongan bioaktif yang dilakukan uji fitokimia diantaranya adalah steroid, alkaloid, fenolat, tanin dan saponin yang menggunakan pereaksi berbeda-beda. Pereaksi yang digunakan kebanyakan bersifat polar sehingga bisa berinteraksi dengan sampel berdasarkan prinsip *like dissolve like*. Uji senyawa flavonoid menggunakan pereaksi Wilstater yang dilakukan dengan penambahan HCl pekat dan serbuk Mg. Hasil positif yang terjadi pada uji flavonoid menggunakan pereaksi Wilstater adalah dengan perubahan warna larutan sampel menjadi kuning (Setiabudi, 2017).

2.6. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis atau KLT adalah metode pemisahan fisikokimia yang didasarkan pada perbedaan distribusi molekul-molekul komponen diantara dua fasa yang berbeda kepolarannya. Fase diam berupa zat padat yang disebut adsorben (penyerap). Fase diam dapat berupa silika gel GF₂₅₄. Fase gerak adalah zat cair yang disebut larutan pengembang atau eluen (Geitter, 1991). Prinsip dari pemisahan kromatografi lapis tipis adalah adanya perbedaan sifat fisik dan kimia dari senyawa, yaitu kecenderungan pada molekul untuk larut dalam cairan, kecenderungan molekul untuk menguap dan kecenderungan pada molekul untuk merekat pada permukaan (Hendayana, 2006).

Kromatografi lapis tipis ini bertujuan untuk mendapatkan isolat senyawa kuersetin dengan menggunakan eluen terbaik. Identifikasi senyawa-senyawa yang terpisah pada kromatografi lapis tipis dapat menggunakan harga R_f (*Retardation factor*) yang menggambarkan jarak yang ditempuh suatu komponen terhadap jarak keseluruhan yang terdapat pada Persamaan (2.1) (Nirwana, Astirin, & Widiyani 2015). Pada percobaan Khudaer dan Hassn (2016) kuersetin dapat terdeteksi menggunakan eluen campuran asam asetat glasial : kloroform : asam format (0,7:8,8:0,5) yang dilihat dibawah sinar UV dan menghasilkan spot berwarna kuning menghasilkan R_f 0,07 dan R_f 0,09. Menurut Suhendi (2011) Pada penelitiannya hasil elusi dengan eluen butanol : asam asetat : air (4:1:5) pada fraksi etil asetat daun dewandaru didapatkan dua bercak yang memiliki flavonoid dengan R_f 0,75 dan R_f 0,625. Pada buah labu juga menghasilkan dua bercak yang merupakan flavonoid kuersetin dengan R_f 0,63 dan R_f 0,81 menggunakan eluen metanol : kloroform : n-heksana (7:2:1) (Gwatidzo, Dzomba, dan Mangena 2018).

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh senyawa dari titik asal}}{\text{Jarak yang ditempuh pelarut dari titik asal}} \dots\dots\dots (2.1)$$

Daya pisah atau resolusi harus baik untuk memastikan tidak ada *overlapping* antara dua puncak yang dipisahkan. Nilai resolusi yang baik dalam kromatografi harus mendekati atau lebih dari 1,5. Besarnya resolusi (R_s) diperoleh dengan membagi jarak antara dua spot (d) dengan jumlah lebar bercak yang satu dengan yang lain (W) yang dikalikan dengan akar dua. Rumus untuk menghitung resolusi dalam KLT terdapat pada Persamaan (2.2) (Rohman, 2009).

$$R_s = \frac{d}{w_1 + w_2 \sqrt{2}} \dots\dots\dots (2.2)$$

2.7. Identifikasi Senyawa Aktif Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometri merupakan metode pengukuran yang didasarkan pada interaksi radiasi elektromagnetik dengan materi berupa molekul. Akibat dari interaksi ini menyebabkan energi diserap dan dipancarkan oleh molekul dan dihubungkan pada konsentrasi analit dalam larutan. Prinsip dasar dari spektrofotometri UV-Vis adalah ketika molekul menyerap radiasi UV atau *visible* dengan panjang gelombang tertentu, maka elektron akan mengalami transisi atau tereksitasi dari tingkat energi yang lebih tinggi dan sifatnya karakteristik pada tiap senyawa. Penyerapan cahaya dari sumber radasi yang dipancarkan pada atom analit besarnya tepat sama dengan perbedaan tingkat energi transisi elektronnya (Rudi, dkk., 2004).

Molekul-molekul yang memerlukan lebih banyak energi untuk promosi elektron akan menyerap sinar pada panjang gelombang yang lebih pendek. Sedangkan molekul yang memerlukan energi yang lebih sedikit akan menyerap pada panjang gelombang yang lebih panjang. Senyawa yang menyerap cahaya dalam daerah tampak memiliki elektron yang lebih mudah ditransisikan (Herliani, 2008). Koirewoa dan Wiyono (2011) pada penelitiannya isolat flavonoid dari daun beluntas menghasilkan dua panjang gelombang maksimum yaitu 372 nm pada pita I dan 276 nm pada pita II yang menandakan bahwa isolat tersebut mengandung flavonoid. Markham (1988) menyatakan bahwa rentang serapan spektrum flavonol mempunyai panjang gelombang 350-385 nm pada pita pertama dan pita kedua pada panjang gelombang 250-280 nm.

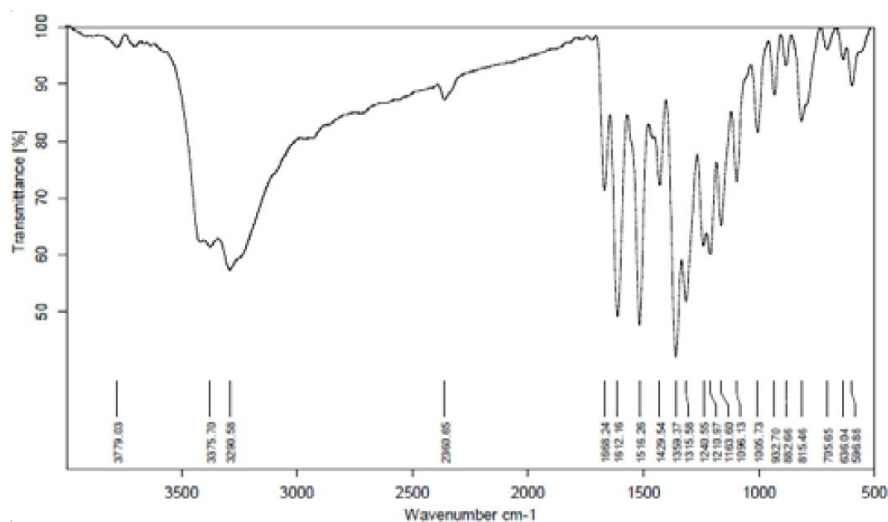
2.8. Identifikasi Senyawa Aktif Menggunakan Spektrofotometer FTIR

Spektrofotometer FT-IR biasa digunakan untuk mengidentifikasi gugus fungsi suatu senyawa. Prinsip dari spektrofotometer FT-IR adalah ketika molekul dari suatu senyawa diberikan energi radiasi inframerah, maka molekul tersebut akan mengalami vibrasi dengan syarat energi yang diberikan terhadap molekul cukup untuk mengalami vibrasi. Sejumlah frekuensi energi yang diperoleh sebagian akan diserap, sedangkan yang lain diteruskan atau ditransmisikan tanpa diserap. Hasil dari persen transmittan dengan frekuensi akan menghasilkan spektrum inframerah (Sastrohamidjojo, 2001). Senyawa yang berinteraksi dengan radiasi inframerah akan menyebabkan vibrasi ikatan-ikatan kovalen pada molekul senyawa tersebut. Hal ini yang dijadikan dasar untuk mengidentifikasi gugus fungsi pada suatu senyawa.

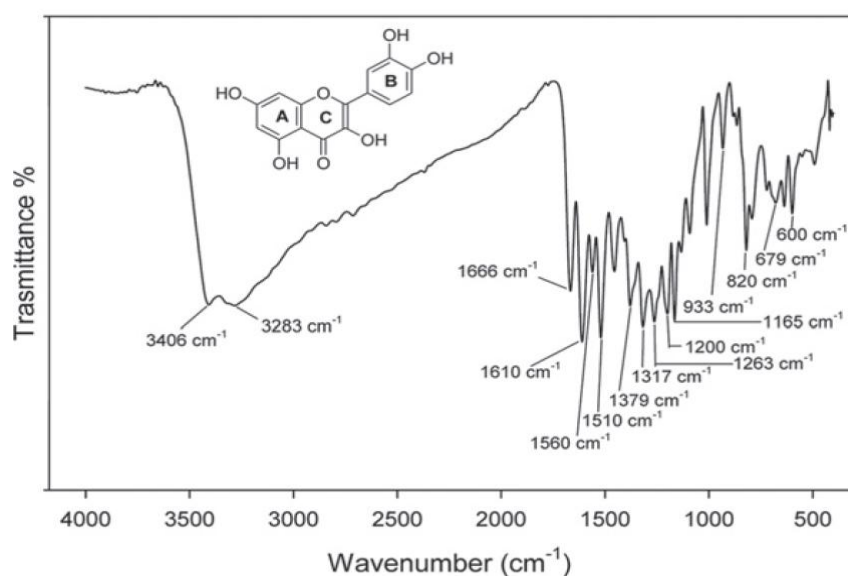
Sambandam, dkk. (2016) melakukan isolasi senyawa flavonoid kuersetin dari daun *Trigonella fornum-gaecum*. Hasil isolasi dilakukan identifikasi menggunakan spektrofotometri FT-IR. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa hasil isolasi sesuai dengan literatur sebelumnya untuk senyawa kuersetin. Sedangkan Catauro, dkk. (2015) melakukan identifikasi senyawa kuersetin murni dengan spektrofotometri FT-IR. Berdasarkan hasil spektrum FT-IR dapat diketahui bahwa kuersetin murni tersebut memiliki gugus beberapa serapan yang dituliskan pada Tabel 2.1.

Berdasarkan gambar 2.3 dan gambar 2.4, serapan khas yang menunjukkan adanya senyawa kuersetin ditunjukkan pada bilangan gelombang 3200 dan 1359 cm^{-1} merupakan serapan OH peregangan dan OH tekuk dari fenol. Serapan regangan C=O aril ketonik pada 1668 cm^{-1} . C=C pita peregangan cincin aromatik terdeteksi pada 1610, 1560, 1510 cm^{-1} . Serapan pita tekuk C-C dalam hidrokarbon aromatik berada pada bilangan gelombang 1317 cm^{-1} . Pada bilangan gelombang

1263, 1200, dan 1165 cm^{-1} merupakan serapan dari peregangan C-O dalam aril eter, peregangan C-O dalam fenol, dan tekukan C-CO-C dalam keton.



Gambar 2.3 Spektra FT-IR kursetin hasil isolasi (Sambandam, dkk., 2016)



Gambar 2.4 Spektra FT-IR Kuersetin Murni (Catauro, dkk., 2015).

Tabel 2.1 Serapan FT-IR pada kuersetin

Pustaka (Sambandam, dkk., 2016)		Pustaka (Catauro, dkk., 2015)	
Posisi Puncak (cm ⁻¹)	Ikatan antar atom	Posisi Puncak (cm ⁻¹)	Ikatan antar atom
3290,58	O-H peregangan pada fenol	3406 dan 3283	OH peregangan
1668,24	C=O pergangan keton aryl	1666	C=O peregangan aril ketonik
1612,16	C---C peregangan cincin aromatik	1610, 1560, dan 1510	C=C peregangan cincin aromatik
1516,26	C=O peregangan aromatik	1379	OH bending dari fungsi fenol
1429,54	C=C peregangan aromatik	1317	C-H dalam hidrokarbon aromatik
1359,37	O-H tekuk pada fenol	1263, 1200, dan 1165	C-O yang berikatan dengan aril cincin eter, C-O yang berikatan di fenol, dan C-CO-C dalam keton.
1315,58	C-H ikatan dalam hidrokarbon aromatik	933, 820, 679, dan 600	<i>Out of plane</i>
1240,55	C-O peregangan pada aryl eter		
1210,97	C-O peregangan pada fenol		
1163,60	C-CO-C peregangan dan tekuk pada keton		
932,70;815,46; 705,65; 596,88	C-H tekuk pada hidrokarbon aromatik		

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Mei - Juli 2020 di Laboratorium Kimia Analitik Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah blender, ayakan 60 mesh dan oven digunakan untuk preparasi sampel. Uji kadar air menggunakan cawan penguap, desikator, neraca analitik, dan gelas arloji. Ekstraksi ultrasonik menggunakan labu erlenmeyer, *ultrasonic cleanser* (sonikasi), kertas saring, dan *rotary evaporator*. Uji fitokimia dan KLT menggunakan seprangkat alat gelas, bejana pengembang, *great chamber*, pipa kapiler, lampu UV 254 dan 366 nm. Identifikasi senyawa menggunakan spektrofotometer FTIR dan UV-Vis.

3.2.2 Bahan

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kelor (*Moringa oleifera* L.) yang diperoleh dari daerah kota Malang, Jawa Timur. Etanol 96%, n-heksan, etil asetat untuk proses pemisahan. Bahan yang digunakan untuk uji fitokimia adalah HCl pekat dan serbuk Mg. Bahan yang digunakan untuk uji KLT adalah plat silika GF₂₅₄, campuran metanol, kloroform : n-heksana (7:2:1), standar kuersetin (sigma-aldrich), dan Reagen AlCl₃.

3.3 Tahapan Penelitian

1. Preparasi sampel
2. Analisis Kadar Air daun kelor
3. Ekstraksi Ultrasonik dengan pelarut etanol 96%
4. Fraksinasi dengan etil asetat
5. Uji Fitokimia
6. Isolasi senyawa kuersetin dengan KLT
7. Identifikasi senyawa aktif dengan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Preparasi Sampel

Sampel daun kelor dicuci dan dipotong kecil-kecil. Selanjutnya daun dikeringkan dengan oven pada suhu 30-37 °C selama ± 19 jam. Kemudian daun diblender hingga berbentuk serbuk dan diayak dengan ayakan 60 mesh agar diperoleh serbuk dengan ukuran kecil dan seragam.

3.4.2 Analisis Kadar Air Daun Kelor

Analisis kadar air dilakukan dengan metode gravimetri. Cawan dipanaskan pada suhu 105°C selama 15 menit, kemudian didinginkan dalam desikator selama 10 menit. Cawan ditimbang dan diulangi perlakuan sampai berat konstan. Selanjutnya sampel ditimbang sebanyak 2 gram dan dipanaskan dalam oven pada suhu 105°C selama 30 menit. Kemudian sampel didinginkan dalam desikator selama 15 menit dan ditimbang kembali. Perlakuan ini diulangi sampai berat konstan. Selanjutnya dihitung kadar air. Kadar air dalam daun kelor dihitung menggunakan Persamaan (3.1).

$$\text{Kadar air} = \frac{b-c}{b-a} \times 100\% \dots\dots\dots (3.1)$$

Keterangan : a = berat konstan cawan kosong

b = berat cawan + sampel sebelum dikeringkan

c = berat konstan cawan + sampel setelah dikeringkan

3.4.3 Ekstraksi Ultrasonik Serbuk Daun Kelor

Ekstraksi serbuk daun kelor dilakukan dengan etanol 96% sebagai pelarut. Perbandingan antara bahan dan pelarut adalah 1:10. Metode ekstraksi yang digunakan adalah ekstraksi ultrasonik dengan lama ekstraksi 30 menit (Liao, Qu & Zheng 2016). Ekstrak yang diperoleh disaring sehingga diperoleh filtratnya. Filtrat dievaporasi menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak kental yang diperoleh diuapkan pelarutnya. Ekstrak etanol kental yang diperoleh ditimbang dan dihitung rendemennya dengan Persamaan (3.2).

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat sampel}} \times 100 \% \dots\dots\dots (3.2)$$

3.4.4 Fraksinasi dengan Etil Asetat (Gaffar, Apriani, dan Herlina, 2018)

Ekstrak etanol sebanyak 3,5 gram dilarutkan dalam 35 mL campuran air dan metanol dengan perbandingan 4:1. Larutan ditambahkan 35 mL n-heksana kemudian dikocok dan didiamkan beberapa saat hingga membentuk dua fasa. Fasa atas n-heksana dan fasa bawah air. Kemudian fasa bawah dilanjutkan dengan penambahan etil asetat dengan perbandingan 1:1. Larutan tersebut dikocok lalu didiamkan beberapa saat hingga terbentuk dua fasa . fasa atas etil asetat dan fasa

bawah air. Fraksi etil asetat kemudian dipekatkan dengan *vacum rotary evaporator*.

3.4.5 Uji Fitokimia Senyawa Flavonoid

Pada hasil ekstrak etanol daun kelor dilakukan uji flavonoid menggunakan pereaksi *wilstater*. Ekstrak sebanyak 1 mL ditambahkan beberapa tetes HCl pekat ditambah sedikit serbuk Mg. Reaksi positif jika terjadi perubahan warna merah coklat (Surbakti, Queljoe, dan Boddhi, 2018).

3.4.6 Pemisahan Senyawa Flavonoid Golongan Kuersetin dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Proses pemisahan senyawa kuersetin dengan metode KLT dilakukan dengan beberapa persiapan diantaranya (Firdaus, 2016):

3.4.6.1 Persiapan Plat KLT

Plat KLT yang digunakan adalah plat silika GF₂₅₄ 20 x 20 cm dipotong sesuai kebutuhan. Selanjutnya diberi penanda garis pada tepi bawah plat dengan jarak 1 cm sebagai posisi penotolan ampel, dan 1 cm pada bagian tepi atas sebagai batas dari proses elusi. Sebelum digunakan, plat silika diaktivasi dengan cara di oven pada suhu 100°C selama 30 menit.

3.4.6.2 Persiapan Fase Gerak (Eluen)

Penelitian ini menggunakan eluen campuran metanol : kloroform : n-heksana (7:2:1) (Gwatidzo, Dzomba, dan Mangena, 2018). Eluen dimasukkan ke dalam bejana dan dijenuhkan terlebih dahulu selama 1 jam dengan ditutup rapat. Penjenuhan ini berfungsi untuk menyetarakan tekanan uap dalam bagian bejana.

3.4.6.3 Penotolan Sampel

Ekstrak etanol daun kelor, fraksi etil asetat dan juga standar kuersetin ditotolkan pada plat KLT dengan jarak 1 cm dari tepi bawah plat. Penotolan

dilakukan dengan pipa kapiler sebanyak kurang lebih 6 kali pada sepanjang plat. Kemudian plat KLT dikering anginkan (Hayati dkk, 2010; Firdaus, 2016).

3.4.6.4 Proses Elusi

Ekstrak, fraksi etil asetat dan standar kuersetin yang telah ditotolkan pada plat KLT kemudian dielusi terhadap fase gerak. Plat KLT dimasukkan dalam *great chamber* yang berisi fasa gerak yang telah jenuh, kemudian *great chamber* ditutup hingga larutan pengembang (eluen) mencapai batas garis tepi atas pada plat. Selanjutnya plat KLT diangkat dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan (Firdaus, 2016).

3.4.6.5 Identifikasi Noda

Noda-noda yang terbentuk pada plat silika disemprot menggunakan reagen semprot AlCl_3 untuk mendeteksi golongan senyawa flavonoid, kemudian diperiksa dibawah sinar UV pada panjang gelombang 365 nm. Noda yang tampak ditandai dengan pensil dan diamati kembali dibawah sinar UV. Kemudian diamati perubahan warna yang terjadi. Hasil uji positif senyawa kuersetin ditandai dengan terbentuknya warna kuning (Khudaer dan Hassn, 2016). Bercak noda yang dihasilkan pada plat KLT dihitung nilai R_f -nya, kemudian bercak noda dikerok dan dilarutkan dalam etanol dan disentrifugasi hingga plat silika mengendap berwarna putih. Kemudian filtrat diidentifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR.

3.4.7 Identifikasi Senyawa Aktif menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Isolat yang telah dilarutkan dalam etanol 96% dan divortex. Selanjutnya dimasukkan kedalam kuvet sampai sepertiga dari isi kuvet penuh dan dianalisis

menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada rentang panjang gelombang 200-400 nm sehingga diperoleh spektra dari isolat kuersetin

3.4.8 Identifikasi Senyawa Aktif Menggunakan Spektrofotometer FTIR

Gugus fungsi kuersetin dikarakterisasi dengan spektrofotometer FTIR dengan plat KBr. Sampel isolat fraksi etil asetat dan standar kuersetin dicampur dengan serbuk KBr dengan digerus secara bersamaan dengan mortar agate. Kemudian dibuat pelet dari hasil gerusan dengan tekanan 80 Torr . Selanjutnya dianalisis dengan spektrofotometer FTIR.

3.4.9 Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian merupakan nilai R_f dari noda yang menandakan sebagai golongan flavonoid kuersetin yang akan diperjelas dengan adanya data gugus fungsi dan juga panjang gelombang maksimum dengan transisi elektronnya.

BAB IV

PEMBAHASAN

4.1. Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun kelor (*Moringa oleifera* L.) yang diambil di daerah Araya Kecamatan Blimbing Kota Malang Jawa Timur. Bagian sampel daun kelor yang digunakan adalah daun sehat yang dipetik dari tangkai daun pertama sampai tangkai daun ketujuh yang masih hijau.

Sebanyak 1 kg daun kelor dicuci dengan air untuk menghilangkan pengotor yang dapat mengganggu proses ekstraksi. Pengeringan dilakukan dengan dioven pada suhu 35-37°C selama 19 jam bertujuan menghilangkan kadar air dalam sampel agar terhindar dari perkembangbiakan mikroba dan dapat disimpan dalam waktu yang lama. Sampel yang telah kering dihaluskan dengan blender, sehingga proses ekstraksi lebih efektif dan senyawa yang terkandung pada sampel mudah ditarik oleh pelarut (Rachmani, dkk., 2012). Menurut Voight (1995), semakin kecil ukuran sampel maka semakin besar luas permukaannya, sehingga kontak antara sampel dengan pelarut semakin besar dan proses ekstraksi akan semakin cepat. Serbuk daun kelor yang telah halus diseragamkan ukurannya menggunakan ayakan 60 mesh yang bertujuan untuk membatasi variasi ukuran sampel, sehingga diperoleh serbuk halus yang ukurannya relatif sama dan seragam.

4.2. Analisis Kadar Air

Analisa kadar air pada sampel kering daun kelor bertujuan untuk mengetahui besarnya kandungan air dalam sampel. Tingginya kadar air dalam sampel dapat mempengaruhi proses pemekatan ekstrak, pelarut akan sulit

menguap karena titik didih pelarut yang telah tercampur dengan air (Kumala, 2007). Kadar air yang rendah akan menghambat pertumbuhan mikroorganisme sehingga sampel dapat disimpan lebih lama.

Analisa kadar air dilakukan dengan pemanasan menggunakan oven pada suhu 100-105°C Penggunaan suhu yang lebih tinggi dari titik didih air bertujuan untuk memaksimalkan penguapan air yang ada dalam sampel. Hasil analisis kadar air dalam sampel kering daun kelor sebesar 4,262% hampir sama dengan penelitian (Wulandari, Farida, dan Taurhesia 2020) didapatkan kadar air sebesar 4,68%. Sampel daun kelor kering tersebut telah memenuhi standar aturan penyimpanan bahan dari pertumbuhan jamur dan mikroba. Menurut sulistyowati (2001), kadar air maksimum dalam sampel kering yang disyaratkan dalam proses ekstraksi agar berlangsung cepat adalah tidak lebih besar dari 10%.

4.3. Ekstraksi Ultrasonik

Ekstraksi sampel daun kelor dilakukan dengan metode ekstraksi ultrasonik. Proses ekstraksi ini bertujuan untuk mengekstrak senyawa flavonoid menggunakan pelarut etanol. Penelitian ini menggunakan metode ultrasonik pada ekstraksi akan memanfaatkan peristiwa kavitasi dalam prosesnya sehingga bisa mempercepat proses ekstraksi. Paparan ultrasonik dapat menembus gumpalan partikel dan menghancurkan struktur dinding sel menjadikan partikel tunggal yang tersebar.

Secara prinsip gelombang ultrasonik terbentuk dari pembangkitan gelombang ultrasonik melalui medium yang dilewati yaitu air pada sekeliling bahan yang akan diekstraksi sehingga terjadi pemanasan pada bahan tersebut dan menyebabkan terbentuknya gelembung yang menghasilkan getaran. Hal tersebut

menyebabkan dinding sel tumbuhan terpecah sehingga akan memberikan pengadukan yang intensif antara senyawa dengan pelarut. Efek mekanik yang ditimbulkan adalah meningkatkan penetrasi dari cairan menuju dinding membran sel, mendukung pelepasan komponen sel dan meningkatkan transfer massa. Hal tersebut menyebabkan senyawa aktif khususnya flavonoid pada sampel mudah larut dalam pelarut.

Sampel diekstraksi ultrasonik dengan frekuensi 42 kHz selama 30 menit dengan perbandingan berat sampel : volume pelarut (b/v) yang digunakan sebanyak 1:10. Menurut Handayani, dkk (2016) ekstraksi ultrasonik daun sirih dengan variasi rasio bahan : pelarut (1:5, 1:10 dan 1:15) didapatkan hasil terbaik pada rasio 1:10. Pemilihan pelarut ini didasarkan pada prinsip *like dissolve like* bahwa suatu senyawa akan terekstrak pada pelarut yang memiliki tingkat kepolaran yang sama. Pelarut etanol dipilih untuk ekstraksi ultrasonik daun kelor ini karena pelarut etanol bersifat polar dan etanol memiliki dua gugus yaitu gugus hidroksil yang bersifat polar dan gugus alkil yang bersifat non polar, sehingga etanol dapat melarutkan senyawa yang bersifat polar hingga non polar (Effendi, 2007). Senyawa flavonoid merupakan senyawa golongan polifenol yang terdistribusi luas pada tumbuhan dalam bentuk glikosida yang berikatan dengan suatu gula, oleh karena itu senyawa flavonoid merupakan senyawa yang bersifat polar (Harsanti dan Yasi, 2019).

Hasil ekstrak pekat daun kelor menggunakan pelarut etanol yang diekstrak selama 30 menit dengan frekuensi 42 kHz didapatkan rendemen sebesar 8,869 %. Dari hasil yang didapatkan dapat dikatakan bahwa ekstraksi dengan bantuan ultrasonik merupakan metode ekstraksi yang efektif, waktu yang diperlukan

ekstraksi lebih singkat dibandingkan dengan ekstraksi tanpa ultrasonik untuk menghasilkan jumlah rendemen produk yang hampir sama. Dibandingkan dengan menggunakan metode ekstraksi yang lain pada penelitian Susanty, Islam, dan Yudistriani (2019) ekstraksi daun kelor dengan pelarut etanol 96% : air suling (1:20) dengan metode perkolasi menghasilkan rendemen 3,525% dan metode maserasi 8,55% lebih rendah dari pada hasil penelitian ini yang menggunakan metode ekstraksi ultrasonik. Hal tersebut karena gelombang ultrasonik membantu mempercepat pecahnya dinding sel akibat adanya kavitasi dan mampu mengekstrak banyak senyawa metabolit sekunder dengan waktu ekstraksi yang lebih cepat dari pada metode ekstraksi lainnya.

Menurut Castro dan Gracia (2004) melaporkan bahwa waktu ekstraksi dengan bantuan ultrasonik lebih singkat dibandingkan dengan ekstraksi tanpa ultrasonik untuk menghasilkan jumlah rendemen yang sama. Hal ini dapat terjadi karena selama ekstraksi yang terbantu dengan energi ultrasonik menyebabkan timbulnya panas dan proses difusi meningkat sehingga proses ekstraksi semakin dipercepat. Tingginya hasil randemen berhubungan dengan banyaknya kandungan senyawa aktif dari suatu sampel, hal tersebut sejalan dengan Dewatisari, Rumiyantri, dan Rakhmawati (2018) bahwa nilai rendemen yang tinggi menunjukkan banyaknya komponen bioaktif yang terkandung di dalamnya. Menurut Liao, Qu, dan Zheng (2016) bahwa efisiensi ekstraksi ultrasonik senyawa flavonoid meningkat secara signifikan dengan penambahan waktu yaitu pada 30 menit pertama, namun dengan ditambahkannya waktu ekstraksi hingga 50 menit peningkatan yang terjadi hanya sedikit dan tidak terdapat perubahan yang signifikan. Hal tersebut dikarenakan gelombang ultrasonik pada menit ke 30 dapat

merusak dinding sel dengan maksimal sehingga terdapat area kontak yang lebih antara sampel dengan pelarut, yang membantu meningkatkan hasil ekstraksi. Namun, jika waktu ekstraksi diperpanjang maka area kontak pada dinding sel bagian dalam akan berkurang karena kontak antara sampel dengan pelarut sudah jenuh.

4.4. Fraksinasi Etil Asetat Daun Kelor

Proses selanjutnya pada ekstrak daun kelor dilakukan dengan fraksinasi cair-cair menggunakan corong pisang. Proses fraksinasi dilakukan dengan dua pertisi yaitu pertisi dengan n-hexan dan pertisi dengan etil asetat. Hasil ekstrak etanol daun kelor didapatkan sebanyak 3,5 gram yang selanjutnya akan digunakan pada proses pertisi dengan n-hexan dengan menambahkan campuran air dan metanol (4:1) sebanyak 35 mL. Penambahan campuran air dan metanol ini berfungsi untuk melarutkan ekstrak. Larutan kemudian ditambahkan 35 mL n-hexan dan dikocok pada corong pisah hingga membentuk dua fasa. Fasa pada bagian atas merupakan fasa n-hexan sedangkan fasa pada bagian bawah adalah fasa air. Fasa n-hexan tersebut bersifat non polar dan fasa air bersifat polar sehingga larutan terpisah karena beda tingkat kepolaran. Senyawa flavonoid yang bersifat polar akan terdistribusi menuju fase air.

Fraaksi air yang dihasilkan pada pertisi dengan n-hexan dilakukan pertisi kembali dengan menggunakan etil asetat. Fraksi air yang dihasilkan tersebut diukur volumenya kemudian ditambahkan dengan etil asetat dengan perbandingan 1:1. Kemudian larutan tersebut dikocok pada corong pisah hingga membentuk dua fasa. Fasa bawah merupakan fasa air sedangkan fasa atas merupakan fasa etil asetat yang bersifat polar. Senyawa flavonoid akan terdistribusi kedalam fasa etil

asetat. Etil asetat memiliki polaritas yang lebih rendah dari air, dengan demikian pada saat fraksinasi flavonoid yang terbentuk aglikon akan lebih terdistribusi ke dalam faksi etil asetat. Sedangkan flavonoid yang terikat dengan gula lebih terdistribusi ke fase air. Hal ini dikarenakan flavonoid yang berbentuk aglikon bersifat kurang polar dibandingkan dengan flavonoid yang terikat gula. Hasil fraksi etil asetat tersebut dipekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga diperoleh hasil fraksi sebanyak 0,143 gram maka randemennya sebesar 4,08%

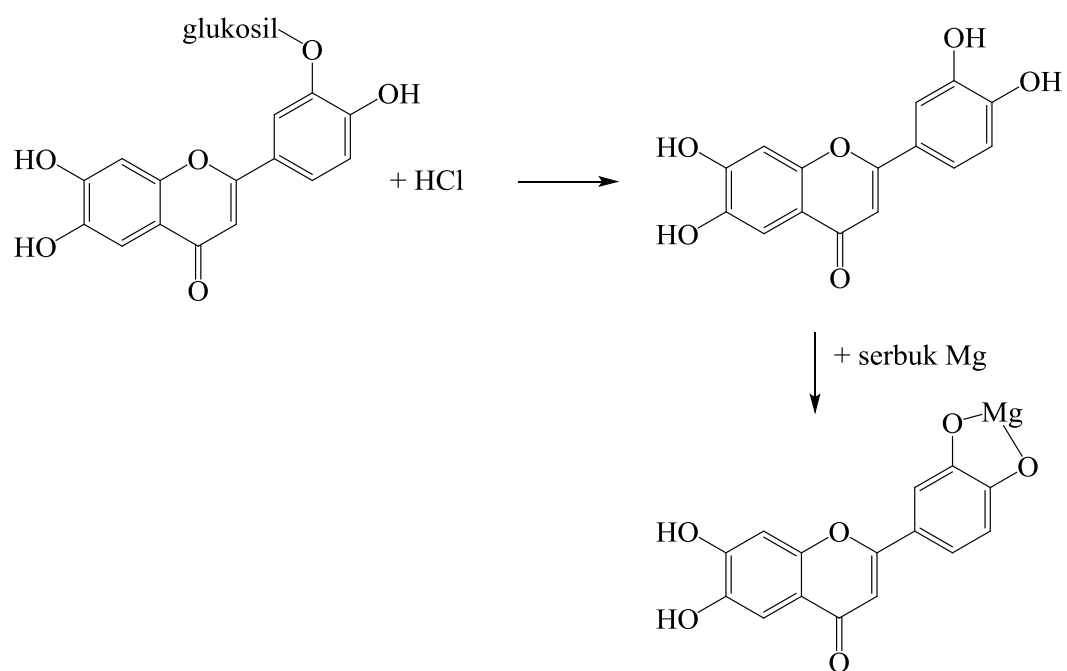
4.5. Uji Fitokimia Senyawa Flavonoid Ekstrak Kasar Daun Kelor

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui adanya kandungan flavonoid yang ada dalam ekstrak kasar daun kelor. Pengujian ini dilakukan dengan penambahan 5 mL etanol yang telah dipanaskan untuk melarutkan 0,5 gram ekstrak. Penambahan 10 tetes HCl bertujuan untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya, yaitu menghidrolisis O-glikosil. Glikosil akan tergantikan oleh H^+ dari asam karena sifatnya yang elektrofilik. Penambahan 0,2 gram serbuk Mg bertujuan agar gugus karbonil flavonoid berikatan dengan Mg. Reduksi dengan Mg dan HCl akan menghasilkan senyawa kompleks garam flavilium yang berwarna merah (Marliana, 2006).

Hasil pengujian senyawa flavonoid menggunakan uji Wilstater menunjukkan ekstrak daun kelor positif mengandung senyawa flavonoid yang ditandai dengan adanya perubahan warna larutan dari berwarna hijau menjadi berwarna merah kecoklatan seperti pada gambar 4.1. Hal tersebut sesuai dengan Surbakti, Queljoe, dan Boddhi (2018) bahwa senyawa yang mengandung flavonoid akan ditunjukkan dengan timbulnya warna merah coklat.



Gambar 4.1 Hasil uji flavonoid

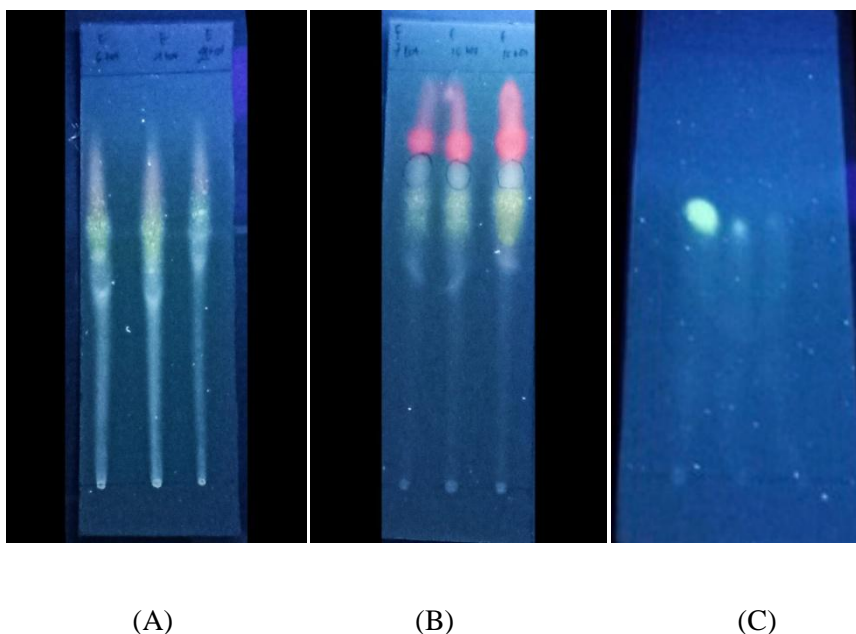


Gambar 4.2 Dugaan reaksi antara senyawa flavonoid dengan logam Mg dan HCl pekat (Hidajat,2005)

4.6. Pemisahan Senyawa Flavonoid Golongan Kuersetin Daun Kelor dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Senyawa flavonoid golongan kuersetin pada fraksi etil asetat daun kelor diidentifikasi menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT). Variasi eluen yang digunakan pada penelitian ini adalah metanol:kloroform:n-hexan (7:2:1)

Menurut Khudaer dan Hassn (2016), flavonoid golongan yang terdeteksi pada kromatografi lapis tipis akan menghasilkan spot berwarna kuning jika dilihat dibawah sinar UV 366 nm.



Gambar 4.3 Perbandingan hasil pemisahan kuersetin di bawah lampu UV 366 nm menggunakan eluen metanol:kloroform:n-hexan (7:2:1) terhadap ekstrak kasar daun kelor (A), fraksi etil asetat (B), dan standar kuersetin (C)

Tabel 4.1 Perbandingan intensitas warna dibawah lampu UV 366 nm pada beberapa sampel

Noda	Intensitas warna			Warna
	Ekstrak kasar	Fraksi etil asetat	Standar kuersetin	
1	++	+	-	Kuning
2	+	+	-	Kuning
3	+	++	+++	Kuning
4	+	+++	-	Merah

Keterangan - = tidak ada, + = rendah, ++ = sedang, +++ = tinggi

Tabel 4.2 Hasil Uji KLT dengan Eluen Metanol : Kloroform : N-hexan (7:2:1)

Sampel elusi	Nomor noda	Rf			Rerata Rf
		U1	U2	U3	
Ekstrak kasar	1	0,487	0,487	0,500	0,491
	2	0,562	0,550	0,562	0,558
	3	0,662	0,662	0,675	0,666
	4	0,812	0,812	0,812	0,812
Fraksi etil asetat	1	0,500	0,500	0,500	0,500
	2	0,575	0,575	0,575	0,575
	3	0,687	0,687	0,687	0,687
	4	0,837	0,837	0,843	0,839
Standar kuersetin	1	-	-	-	-
	2	-	-	-	-
	3	0,687	0,625	0,675	0,662
	4	-	-	-	-

Uji KLT dengan eluen metanol:kloroform:n-hexan (7:2:1) pada sampel ekstrak kasar dan fraksi etil asetat daun kelor ditunjukkan pada Gambar 4.3, Tabel 4.1 dan Tabel 4.2. Pola pemisahan ketiga macam sampel yang diuji yaitu ekstrak kasar, fraksi etil asetat, dan standar kuersetin menghasilkan kromatogram yang terdapat perbedaan jumlah noda yang dihasilkan. Pada ekstrak kasar dan fraksi etil asetat jumlah noda yang dihasilkan sama namun intensitas warnanya berbeda. Sedangkan pada standar kuersetin yang murni tidak ada campuran senyawa lain menghasilkan hanya satu noda berwarna kuning.

Noda yang dihasilkan pada sampel ekstrak kasar memiliki intensitas warna dominan rendah, hal tersebut karena masih terdapat campuran dengan senyawa lain sehingga tampak kurang jelas. Noda 1,2,3, dan 4 secara berurutan memiliki nilai Rf 0,491; 0,558; 0,666; dan 0,812. Pada fraksi etil asetat pada noda 3 dan 4 terlihat lebih jelas karena pada fraksi etil asetat lebih murnih dengan pertambahannya pemisahan yang dilakukan. Nilai Rf pada fraksi etil asetat secara berurutan yaitu 0,500; 0,575; 0,687; dan 0,839.

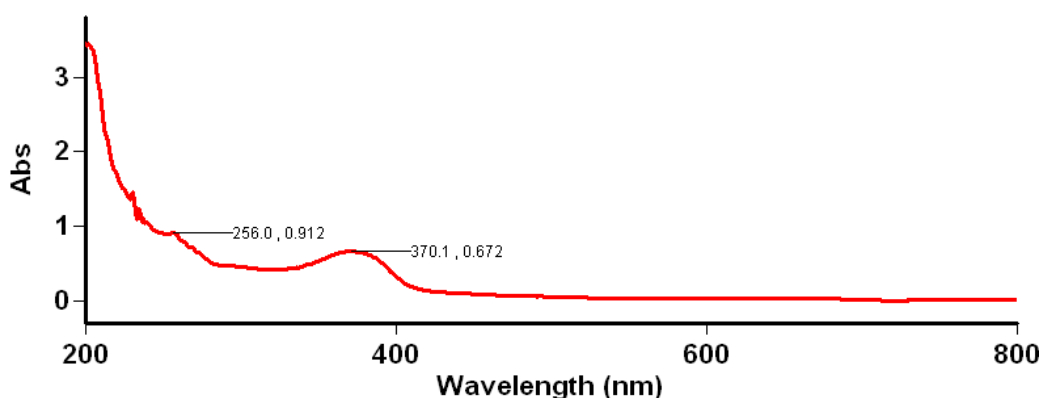
Pada standar kuersetin hanya memunculkan satu jenis noda pada Rf 0,662 berwarna kuning yang menandakan murni senyawa kuersetin, hal tersebut yang akan digunakan sebagai pembanding untuk mengetahui kandungan senyawa kuersetin yang ada pada isolat ekstrak kasar dan fraksi etil asetat. Maka diduga senyawa kuersetin pada ekstrak kasar dan fraksi etil asetat terdapat pada noda 3 pada Rf 0,666 dan 0,687 yang berwarna kuning. Pada penelitian ini menghasilkan nilai Rf yang sedikit lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian Gwatidzo dkk (2018). Pada penelitian Gwatidzo dkk (2018) pada ekstraksi maserasi buah labu menghasilkan spot kuning dengan intensitas warna yang rendah pada Rf 0,63 dan 0,81 yang merupakan dugaan senyawa flavonoid. Jika spot hasil KLT pada penelitian Gwatidzo dkk (2018) di bandingkan dengan standar kuersetin murni maka spot yang merupakan senyawa flavonoid golongan kuersetin yaitu pada spot Rf 0,63. Penggunaan metode ekstraksi ultrasonik pada penelitian ini selain proses ekstraksi yang lebih cepat, penggunaan pelarut yang lebih efisien dan rendemen hasil ekstrak lebih tinggi, metode ekstraksi ini juga melakukan proses pemisahan yang lebih sempurna dibandingkan dengan metode maserasi pada penelitian Gwatidzo dkk (2018). Spot warna yang kurang jelas menandakan jika pada proses ekstraksi dengan maserasi proses pemisahan masih kurang sehingga menghasilkan spot warna kuning samar.

4.7. Identifikasi Senyawa Aktif menggunakan UV-Vis

Spektrofotometer UV-Vis merupakan suatu analisis berdasarkan pengukuran serapan suatu larutan yang dilalui radiasi monokromatis. Penyerapan cahaya oleh molekul dalam daerah spektrum ultraviolet bergantung pada struktur dari molekul. Spektrum ultraviolet dari senyawa-senyawa organik berkaitan erat dengan transisi-transisi diantara tingkatan-tingkatan tenaga elektronik (Sastrohamidjojo, 1996). Spektrofotometer UV-Vis digunakan untuk menentukan

secara deskriptif senyawa metabolit sekunder yang didapat dari hasil pemisahan senyawa dengan KLT.

Hasil isolasi senyawa flavonoid golongan kuersetin dengan KLT selanjutnya diidentifikasi menggunakan spektroskopi UV-Vis. Berdasarkan hasil KLT fraksi etil asetat daun kelor menghasilkan serapan pada panjang gelombang yang ditampilkan pada gambar 4.4



Gambar 4.4 Spektra isolat daun kelor

Tabel 4.3 Panjang Gelombang maksimum Isolat

Hasil isolat		Hasil standar kuersetin (Cahyani, 2017)	
Panjang Gelombang (nm)	Absorbansi	Panjang Gelombang (nm)	Absorbansi
370,1	0,672	373,0	1,467
256,0	0,912	256,40	1,407

Berdasarkan pengukuran UV-Vis pada isolat menghasilkan panjang gelombang 370,1 nm dan 256,0 nm yang sama dengan panjang gelombang standar kuersetin pada penelitian Cahyani (2017) yaitu pada panjang gelombang 373,0 nm dan 256,40 nm. Sehingga dapat diketahui bahwa pada isolat daun kelor terdapat senyawa kuersetin yang terkandung didalamnya. Hasil pengukuran UV-

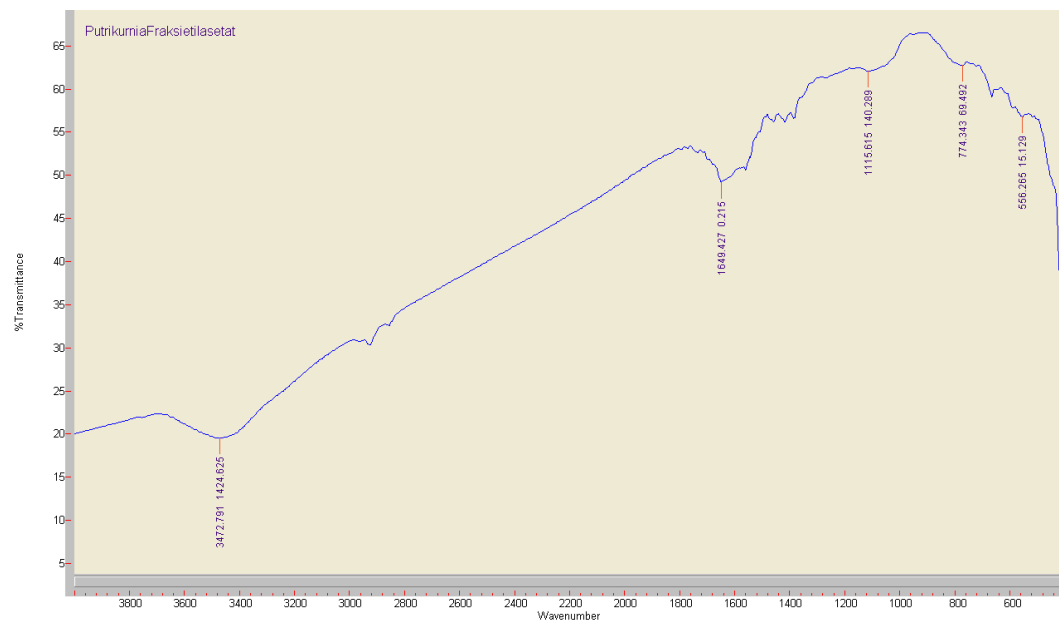
Vis terdapat serapan maksimum pada panjang gelombang 370,1 nm untuk pita I dan serapan pada panjang gelombang 256,0 nm untuk pita II. Serapan maksimum yang ditunjukkan pada pita I disebabkan oleh adanya eksitasi elektron dari $\pi - \pi^*$ yang menunjukkan keberadaan gugus kromofor C=C terkonjugasi. Sedangkan serapan maksimum yang ditunjukkan pada pita II disebabkan oleh adanya transisi elektronik dari $n - \pi^*$ yang menunjukkan kromofor tunggal seperti ikatan C=O. Menurut Markham (1988) senyawa yang memiliki serapan pada panjang gelombang 350 - 385 nm untuk pita I dan serapan pada panjang gelombang 250 - 280 nm untuk pita II merupakan rentang serapan senyawa golongan flavon (3-OH bebas). Pada penelitian ini menghasilkan panjang gelombang yang lebih rendah dibandingkan pada penelitian (Koirewoa dan Wiyono 2011) yang menggunakan metode ekstraksi maserasi yaitu 373 nm pada absorbansi 0,256 dan pada pita kedua memiliki panjang gelombang 276 nm pada absorbansi 0,532.

4.8. Identifikasi Senyawa Aktif menggunakan FTIR

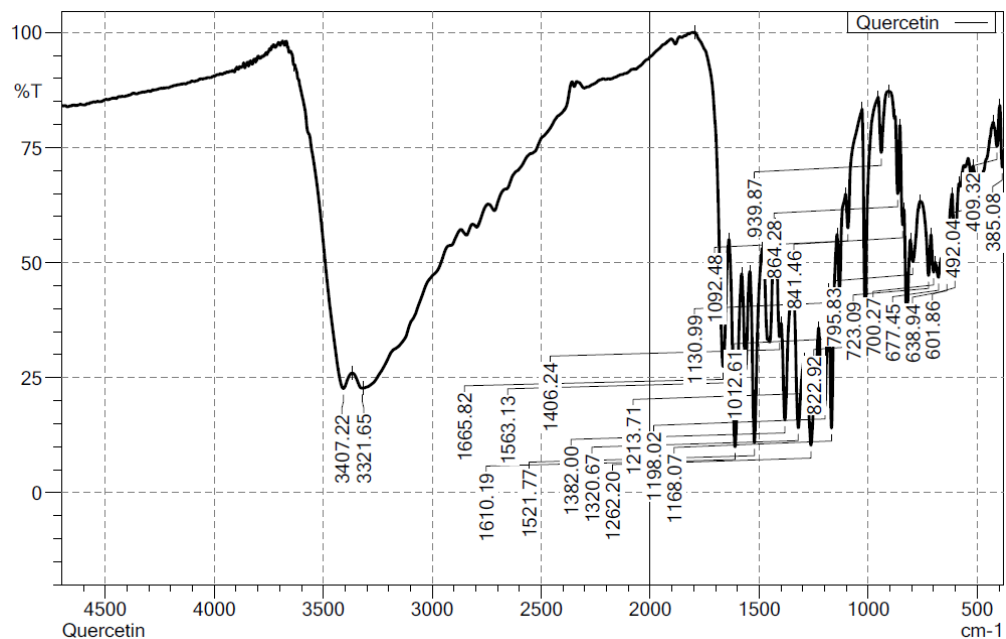
Proses Identifikasi menggunakan spektrofotometer FTIR berdasarkan vibrasi oleh setiap gugus fungsi yang dapat memberikan informasi mengenai dugaan senyawa flavonoid golongan kuersetin yang akan diidentifikasi. Isolat dihaluskan dengan mortar agate bersama garam KBr. Selanjutnya dilakukan pengepresan pada tekanan 80 torr selama 10 menit, sehingga terbentuk pelet tipis untuk dilakukan proses penganalisaan dengan spektrofotometer FTIR.

Tampilan spektrum terdapat puncak-puncak yang menunjukkan gugus-gugus tertentu dengan grafik perbandingan serapan bilangan gelombang terhadap transmitan (%T). Terjadinya interaksi antara energi dan molekul dalam FTIR menyebabkan terjadinya transisi akibat adanya vibrasi molekul, sehingga setiap

gugus fungsi mempunyai tipe ikatan yang berbeda dan mempunyai serapan IR yang khas. Identifikasi menggunakan FTIR ini dapat memperkuat dugaan senyawa yang terkandung dalam isolat daun kelor. Hasil senyawa FTIR ditunjukkan pada Gambar 4.5



Gambar 4.5 Spektrogram hasil FTIR isolat dugaan flavonoid golongan kuersetin



Gambar 4.6 Spektrogram hasil FTIR standar kuersetin

Tabel 4.4 Interpretasi Isolat dugaan kuersetin

No	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)			Intensitas	Jenis Vibrasi
	Fraksi etilasetat	Standar kuersetin	Pustaka (Socrates,1994 dan Siswarni dkk, 2017)		
1	3472,791	3407,22	3411	m-s	OH <i>stretch vibration of phenol</i>
2	1649,427	1665,82	1663,8	m	C=O <i>aryl ketonic streatch</i>
3	1550,00	1610,19	1608	m	C=C <i>aromatic ring streatch</i>
4	1382,957	1382,0	1383,1	m	O-H <i>bending of phenol</i>
5	1115,615	1012,61	1125-1085	s	C-O <i>stretching secondary alcohol</i>
6	774,343	795,83	1260-700	w	C-C <i>stretch</i>
7	556,265	601,86	600-420	m	C-H <i>out of plane ring bonding</i>

Berdasarkan hasil spektra yang ditunjukkan oleh gambar 4.6 isolat pada fraksi etil asetat menghasilkan serapan pada 3472,791 cm⁻¹ dengan menunjukkan serapan gugus O-H . Pita melebar yang biasanya muncul antara 3500-3200 cm⁻¹ yang berasosiasi dengan fenol dan alkohol dengan ikatan hidrogen –OH (Marcus dan Nwineewii, 2015). Serapan khas lainnya yang terdapat pada 1649,427 cm⁻¹ menunjukkan serapan dari C=O alifatik dari keton atau ester alifatik, serapan sedikit lebih rendah dari yang diketahui secara teoritis yaitu 1608 cm⁻¹ (Siswarni dkk, 2017). Selain itu adanya serapan pada daerah 1550,00 cm⁻¹ menunjukkan gugus C=C *aromatic ring streatch*. Pada bilangan gelombang 1382,957 cm⁻¹ menunjukkan serapan khas dari O-H *bending of phenol*. Selain itu adanya alkohol sekunder dari gugus C-O *streatching* pada daerah 1115,615 cm⁻¹. Pada bilangan gelombang 774,343 cm⁻¹ merupakan serapan ulur (*streatching*) dari gugus C-C.

Sedangkan pada serapan $556,265\text{ cm}^{-1}$ merupakan serapan cincin C-H pada daerah *out of plane*.

Pada penelitian Salimi, Bialangi, dan Saiman (2017) hasil FTIR pada ekstraksi maserasi daun kelor menghasilkan serapan gugus-gugus yang menunjukkan adanya flavonoid yaitu pada bilangan gelombang $3429,14\text{ cm}^{-1}$ dari serapan OH, $2936,08\text{ cm}^{-1}$ dari serapan C-H alifatik, $1713,04\text{ cm}^{-1}$ dari serapan C=O, $1642,37\text{ cm}^{-1}$ dari serapan fenol C=C aromatik, $1379,17\text{ cm}^{-1}$ dari serapan C-H, $1239,14\text{ cm}^{-1}$ dari serapan C-O alkohol, pada serapan aromatik C-H terdapat pada bilangan gelombang $957,36\text{ cm}^{-1}$, $924,37\text{ cm}^{-1}$, $884,75\text{ cm}^{-1}$. Jika dibandingkan dengan penelitian Salimi, Bialangi, dan Saiman (2017) terdapat sedikit perbedaan pergeseran bilangan gelombang profil puncak yang juga relatif berbeda, hal ini terjadi karena disebabkan metode ekstraksi maka hasil molekul yang menyerap sinar inframerah juga akan berbeda. Ekstraksi ultrasonik yang menggunakan energi ultrasonik dengan menghasilkan getaran yang kuat dan juga panas sehingga senyawa fitokimia yang terkandung di dalam daun kelor lebih banyak berdifusi. Menurut Suseno dan Firdausi (2008) jika sinar inframerah dilewatkan melalui sampel senyawa organik maka terdapat sejumlah frekuensi yang diserap dan ada yang diteruskan atau ditransmisikan tanpa diserap. Serapan cahaya oleh molekul tergantung pada struktur elektronik dari molekul tersebut.

4.9. Pemanfaatan Daun Kelor dalam Perspektif Islam

Allah SWT telah menciptakan manusia dalam keadaan tidak mengetahui segala sesuatu di dunia ini. Namun, Allah SWT menciptakan manusia sebagai khalifah di bumi. Khalifah mempunyai tugas untuk memelihara, memikirkan dan mengkaji ciptaan Allah SWT yang terdapat di bumi, Allah menjadikan manusia

makhluk yang menggunakan akalnya untuk berfikir dan dapat mengambil manfaat dari segala ciptaan Allah SWT dengan baik dan benar. Berdasarkan ayat-ayat Al-Quran, Allah SWT seringkali menyeru manusia untuk memperhatikan dan merenungkan segala ciptaan-Nya yang amat menakjubkan. Agar senantiasa manusia selalu berfikir dan menjadi hamba Allah yang tunduk dan patuh dihadapan Allah SWT. Sebagaimana firman Allah SWT dalam Qs. Ali-'imran ayat 190-191 yaitu:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمُوتِ وَالْأَرْضِ وَآخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ ۚ ۱۹۰
 الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمُوتِ
 وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ۚ ۱۹۱

Artinya: “*Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan pergantian malam dan siang terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi orang yang berakal, (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri, duduk, atau dalam keadaan berbaring, dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata), “Ya Tuhan kami, tidaklah engkau menciptakan semua ini sia-sia; Maha Suci Engkau, lindungilah kami dari azab neraka”* (QS. Ali ‘Imran: 190-191).

Surah Ali Imran ayat 190-191 menjelaskan bahwa, Allah SWT telah menciptakan langit dan bumi yang didalamnya terdapat suatu tanda-tanda kebesaran-Nya. Namun Allah SWT membatasi tanda-tanda kebesaran-Nya dan hanya bisa diketahui bagi orang-orang yang mengkaji dan memikirkannya. Quraish Shihab (2004) menjelaskan bahwa orang yang mau menggunakan pikirannya, mengambil faedah dari ciptaan-Nya, hidayah dari-Nya dan menggambar keagungan Allah SWT serta mengingat Allah dalam setiap keadaan merupakan manusia yang memiliki *ulul albab*. Seperti halnya dalam melakukan pengkajian ilmu melalui penelitian ini untuk mengambil manfaat dari dalam

tumbuhan. Penelitian ini mengkaji mengenai isolasi dan identifikasi senyawa metabolit sekunder yaitu senyawa kuersetin yang terkandung dalam daun kelor. Dengan adanya ilmu pengetahuan, penelitian melalui proses pemisahan dan pemurnian daun kelor maka dapat menemukan kandungan senyawa tersebut dan diambil untuk digunakan manfaatnya bagi kehidupan.

Menurut tafsir Ibnu Kasir lafadz (إِنْ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ) “*Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi*” hal tersebut menjelaskan tentang kekuasaan dan kebesaran Allah SWT yang menciptakan alam beserta isinya. Tidak ada yang diciptakan oleh Allah SWT menjadi sesuatu yang sia-sia, melainkan Allah SWT menciptakan alam dan isinya dengan memiliki hikmah-hikmah tertentu. Pada lafadz (لَءَايَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ) “*terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal*” ini menjelaskan bahwa Allah SWT menciptakan manusia sebagai makhluk yang sempurna yang memiliki akal-akal dan kecerdasan, sehingga dapat mengetahui dengan jelas tanda-tanda kekuasaan Allah SWT (Ad-Dymasyqy, 2000).

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Pemisahan kromatografi lapis tipis yang dibandingkan dengan standar kuersetin dengan R_f 0,662, menunjukkan dugaan senyawa kuersetin dalam ekstrak kasar dan fraksi etil asetat daun kelor terdapat pada noda 3 yang berwarna kuning dengan R_f 0,666 dan 0,687.
2. Identifikasi menunjukkan adanya senyawa senyawa flavonoid golongan kuersetin dengan spektrofotometer UV-Vis isolat fraksi etil asetat menghasilkan panjang gelombang maksimum 370,1 nm dengan transisi elektron $\pi - \pi^*$ dari ikatan C=C terkonjugasi dan panjang gelombang 256,0 nm dengan transisi elektron $n - \pi^*$ dari ikatan C=O . Sedangkan identifikasi spektrofotometer FTIR menunjukkan gugus fungsi -OH, C=O alifatik dari keton, C=C regangan dari cincin aromatik, dan regangan C-O yang sesuai dengan serapan standar kuersetin.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan kontrol jumlah isolat yang ditotolkan pada plat agar keterulangan pola kromatogram KLT yang dihasilkan lebih baik.
2. Perlu dilakukan analisis kadar flavonoid kuersetin pada isolat daun kelor.
3. Perlu dilakukan analisis lanjutan dengan uji aktivitas antikanker dari isolat flavonoid golongan kuersetin pada daun kelor ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Alethea, Talytha, dan M Ricky Ramadhian. 2015. *Efek Antidiabetik pada Daun Kelor*. Vol 4, No. 9: 5.
- Ali, Fahmy T, Nahla S Hassan, dan Rehab R Abdrabou. 2015. *Potential Activity of Moringa Oleifera Leaf Extract and Some Active Ingredients against Diabetes in Rats* 6 (5): 11.
- Aminah, Syarifah, Tezar Ramadhan, dan Muflihani Yanis. 2015. Kandungan Nutrisi dan Sifat Fungsional Tanaman Kelor (*Moringa oleifera*). *Buletin Pertanian Perkotaan* Vol 5 No. 2.
- Anam, Chairul. 2010. Ekstraksi Oleoresin Jahe (*Zingiber Officinale*) Kajian Dari Ukuran Bahan, Pelarut, Waktudansuhu. *Jurnal Pertanian MAPETA* Vol. XII. No. 2.
- Andjani, Nabila, Hidayat Sujuti, dan Sri Winarsih. 2016. Efek Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera*) terhadap Nuclear Factor Kappa Beta (NF- κ B) Aktif dan Apoptosis Cell Line Kanker MCF-7. *Majalah Kesehatan* 3 (4): 204–12.
- Anwar, Syaiful, Eny Yulianti, Abdul Hakim, Ahmad Ghanaim Fasya, Begum Fauziyah, dan Roihatul Muti'ah. 2014. Uji Toksisitas Ekstrak Akuades (Suhu Kamar) Dan Akuades Panas (70 °C) Daun Kelor (*Moringa Oleifera* Lamk.) Terhadap Larva Udang *Artemia Salina* Leach. *ALCHEMY*.
- Cahyani, Rezki, Yuliet Susanto, dan Akhmad Khumaidi. 2017. Aktivitas Antioksidan dan Sitotoksik Ekstrak Etanol Daun hantap (*Sterculia coccinea* Jack.). *Natural Science: Journal of Science and Technology* 6 (1).
- Castro MDL, Garcia JLL. 2004. Ultrasonic-Assisted Soxhlet Extraction : An Expeditive Approach For Solid Sample Treatment, Application To The Extraction Of Total Fat From Oleaginous Seeds. *J Chromatogr A*. 1034:237-242.
- Catauro, Michelina, Ferdinando Papale, Flavia Bollino, Simona Piccolella, Sabina Marciano, Paola Nocera, dan Severina Pacifico. 2015. Silica/Quercetin Sol-Gel Hybrids as Antioxidant Dental Implant Materials. *Science and Technology of Advanced Materials* 16 (3): 035001.
- Coppin, Julia P., Yanping Xu, Hong Chen, Min-Hsiung Pan, Chi-Tang Ho, Rodolfo Juliani, James E. Simon, dan Qingli Wu. 2013. Determination of Flavonoids by LC/MS and Anti-Inflammatory Activity in *Moringa Oleifera*. *Journal of Functional Foods* 5 (4): 1892–99.

- Desai, Sonal, dan Pratima Tatke. 2015. Isolation and Analytical Method Development of Flavonol Glycoside, Quercetin-3-O- β -D-Glucoside: A Review. *Journal of Natural Remedies* 15 (2): 77.
- Dewatisari, Whika Febria, Leni Rumiyantri, dan Ismi Rakhmawati. 2018. Rendemen dan Skrining Fitokimia pada Ekstrak Daun Sansevieria sp. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan* 17 (3): 197.
- Djarwis, D. 2004. Teknik Penelitian Kimia Organik Bahan Alam, Workshop Peningkatan Sumber Daya Manusia Penelitian dan Pengelolaan Sumber Daya Hutan yang Berkelanjutan. *Pelaksana Kelompok Kimia Organik Bahan Alam Jurusan Kimia FMIPA Universitas Andalas Padang*, Kerjasama dengan Proyek Peningkatan Sumber Daya Manusia Ditjen Dikti Depdiknas Jakarta.
- Dwipayana, I Nyoman Agus, Vida Elsyana, dan Tutik. 2018. Identifikasi Dan Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kelor Pada Variasi Pelarut Dengan Metode Dpph. Vol.1 (2): 8.
- Gaffar, Shabarni, Riza Apriani, dan Tati Herlina. 2018. Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol, Fraksi Etil Asetat dan n-heksana Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Terhadap Sel Kanker Payudara T47D. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia* 14: 11.
- Gandjar, I.G., Rohman, A., 2012. Analisis Obat Secara Spektrofotometri dan Kromatografi. Yogyakarta.
- Guenther, E. 1987. Minyak Astiri. jilid I. Terjemahan Ketaren S. Jakarta: Universitas Jakarta.
- Gwatidzo, Luke, Pamhidzai Dzomba, dan Mkululi Mangena. 2018. TLC Separation and Antioxidant Activity of Flavonoids from *Carissa Bispinosa*, *Ficus Sycomorus*, and *Grewia Bicolor* Fruits. *Nutrire* 43 (1): 3.
- Hadjat. B. 2005. Penggunaan Antioksidan Pada Anak. *Artikel Kimia*. Surabaya: Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.
- Handayani, Hana, Feronika Heppy Sriherfyna, Jl Veteran, dan Penulis Korespondensi. 2016. Ekstraksi Antioksidan Daun Sirsak Metode Ultrasonic Bath (Kajian Rasio Bahan : Pelarut Dan Lama Ekstraksi) 4 (1): 11.
- Harborne, J.B. 1996. Metode Fitokimia: Penentuan Cara Modern Menganalisa Tumbuhan. *Terjemahan Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro*. Bandung: ITB.
- Harsanti, Restiani Sih, dan Ratna Mustika Yasi. 2019. Pengaruh jenis pelarut pada ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap mortalitas larva *Aedes*

- aegypti. *Edubiotik : Jurnal Pendidikan, Biologi dan Terapan* 4 (02): 101–9.
- Hartuti, Sri, dan Muhammad Dani Supardan. 2013. Response Surface Methodology (Rsm). 33 (4): 9.
- Herliani, A. 2008. Spektrofotometri. Bandung: Universitas Padjajaran.
- Ikalinus, Robertino, Sri Kayati Widyastuti, dan Ni Luh Eka Setiasih. 2015. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera*). *Indonesia Medicus Veterinus*, 9.
- Januarti, Ika Buana, Arifin Santoso, dan Akhdan Sultrawan Razak. 2015. Flavonoid Extraction of Teak Leaf (*Tectona grandis* L.) with Ultrasonic Method (Study Of Material:Solvent Ratio and Extraction Time). 12 (2): 8.
- Khan, Fazlullah, Kamal Niaz, Faheem Maqbool, Fatima Ismail Hassan, Mohammad Abdollahi, Kalyan Nagulapalli Venkata, Seyed Nabavi, dan Anupam Bishayee. 2016. Molecular Targets Underlying the Anticancer Effects of Quercetin: An Update. *Nutrients* 8 (9): 529.
- Khudaer, Nuha B, dan Zaynab Y Muhammed Hassn. 2016. Purification and Identification of Total Flavonoids Extracted from *Moringa Oleifera* Leaves in Iraq. *Journal of Biotechnology Research Center* 10: 8.
- Koirewoa, Yohanes Adithya, dan Weny Indayany Wiyono. 2011. Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Dalam Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.),. 6.
- Krisnadi, A Dudi. 2015. *Kelor Super Nutrisi*. Revisi. Blora: Pusat Informasi dan Pengembangan Tanaman Kelor Indonesia.
- Lenny, S. 2006. Isolasi dan Uji Bioaktivitas Kandungan Kimia Utama Puding Merah dengan Metode Brine Shrim. Tesis. Universitas Sumatra Utara.
- Leone, Alessandro, Giovanni Fiorillo, Franca Criscuoli, Stefano Ravasenghi, Laura Santagostini, Gelsomina Fico, Angela Spadafranca, dkk. 2015. Nutritional Characterization and Phenolic Profiling of *Moringa Oleifera* Leaves Grown in Chad, Sahrawi Refugee Camps, and Haiti. *International Journal of Molecular Sciences* 16 (8): 18923–37.
- Leone, Alessandro, Alberto Spada, Alberto Battezzati, Alberto Schiraldi, Junior Aristil, dan Simona Bertoli. 2015. Cultivation, Genetic, Ethnopharmacology, Phytochemistry and Pharmacology of *Moringa Oleifera* Leaves: An Overview. *International Journal of Molecular Sciences* 16 (12): 12791–835.

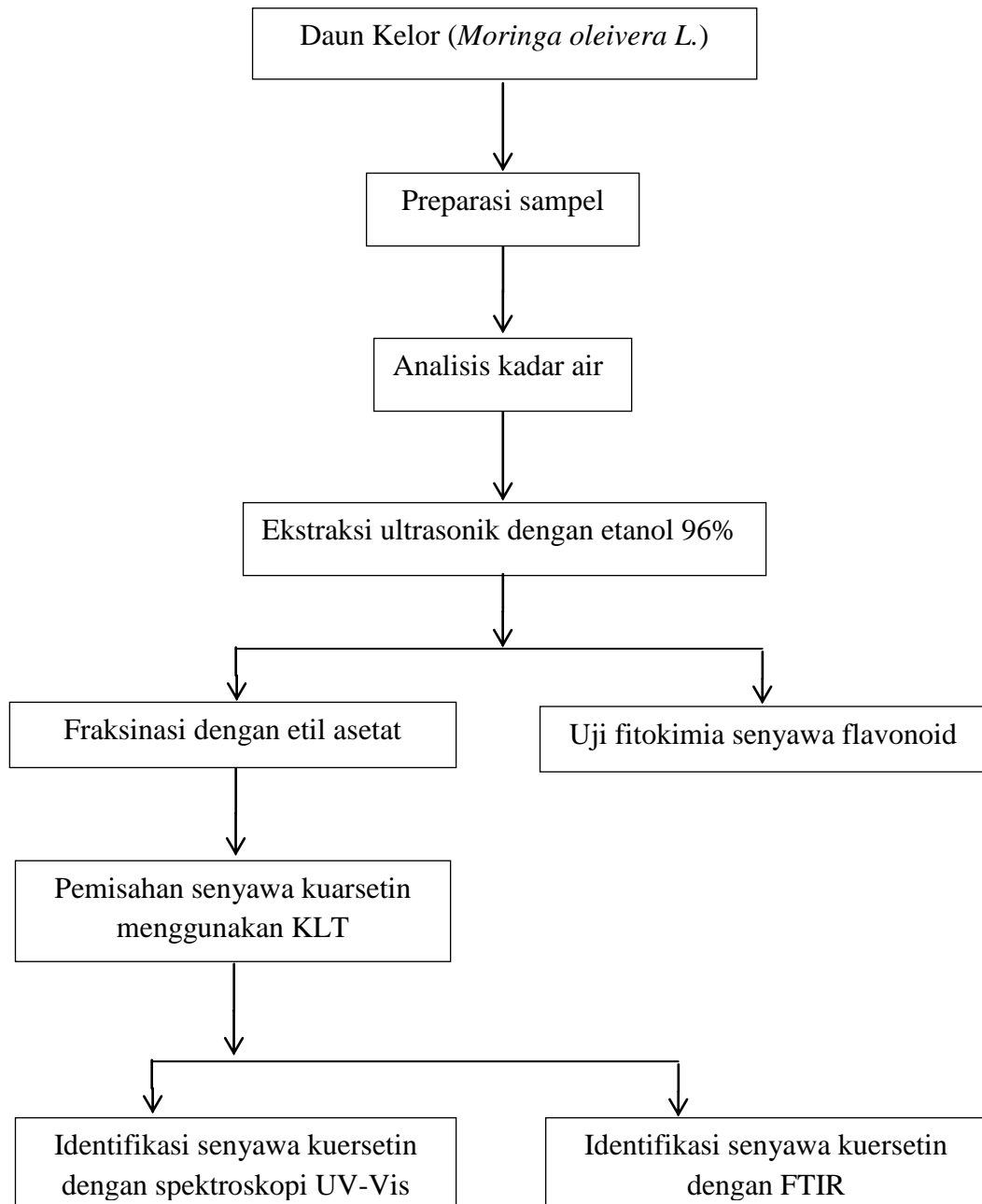
- Liao, Jiangqing, Baida Qu, dan Nan Zheng. 2016. Effects of Process Parameters on the Extraction of Quercetin and Rutin from the Stalks of *Euonymus Alatus* (Thumb.) Sieb and Predictive Model Based on Least Squares Support Vector Machine Optimized by an Improved Fruit Fly Optimization Algorithm. *Applied Sciences* 6 (11): 340.
- Lutfiana. 2013. Uji Aktivitas Antiinflamasi Eksrtak Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) Dengan Metode Stabilisasi Membrane Sel Darah Merah Dengan Metode In Vitro. *Jakarta : UIN Syarif Hidayatullah* (Skripsi).
- Marcus, A.C., and Nwineewii, J.D., 2015, Studies on the Crude Extract of *Moringa oleifera* Leaves for Preliminary Identification of some Phytochemicals and Organic Functions, *J. of Applied Chem.*, 8 (2), 1-5
- Markharn, K. R. 1988. Cara Mengidentifikasi Flavonoida. a.b. Kosasih Padmawinata, *ITB Press, Bandung*.
- Nirwana, Ardy Prian, Okid Parama Astirin, dan Tetri Widiyani. 2015. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Benalu Kersen (*Dendrophloe pentandra* L. Miq.). *El-Vivo* Vol.3, No.2,: 9–15.
- Rudi, L., Suratno, W., dan Paundan. 2004. Perbandingan Penentuan Surfaktan Anonik dengan Spektrofotometer UV-Vis Menggunakan Pengompleks Malasit Hijau dan Metilen Biru. *Jurnal Kimia Lingkungan*, 6(1): 58-61
- Rohyani, Immy Suci. 2015. Kandungan fitokimia beberapa jenis tumbuhan lokal yang sering dimanfaatkan sebagai bahan baku obat .
- Saifudin, A., Suparti, F.A., dan Da'i, M. 2006. Biotransformasi Kurkumin Melalui Kultur Suspensi Sel Daun *Catharanthus Roseus* L. dan Bunga Merah. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah. *Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi* Vol. 7 No. 2.
- Salimi, Yuszda K., Nurhayati Bialangi, dan Saiman Saiman. 2017. Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Metanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lamk.). *Akademika : Jurnal Ilmiah Media Publikasi Ilmu Pengetahuan dan Teknologi* 6 (2).
- Sambandam, Bharathi, Devasena Thiyagarajan, Arivarasan Ayyaswamy, dan Pachaiappan Raman. 2016. Extraction And Isolation Of Flavonoid Quercetin From The Leaves Of *Trigonella Foeniculum-Graecum* And Their Anti-Oxidant Activity. 8 (6): 5.
- Sastrohamidjojo, H., 1991, Spektroskopi, *Liberty*, Yogyakarta.
- Setiabudi, Dian Arista. 2017. Phytochemical Screening On Methanol Ekstrak 6 (3): 6.

- Sharifi, Niusha, Shabnam Mahernia, dan Massoud Amanlou. 2017. Comparison of Different Methods in Quercetin Extraction from Leaves of *Raphanus Sativus* L. *Pharmaceutical Sciences* 23 (1): 59–65.
- Siswarni Mz, Yusrina Ika Putri, Dan Rizka Rinda P. 2017. Ekstraksi Kuersetin Dari Kulit Terong Belanda (*Solanum Betaceum* Cav.) Menggunakan Pelarut Etanol Dengan Metode Maserasi Dan Sokletasi. *Jurnal Teknik Kimia Usu* 6 (1): 36–42.
- Stenis, Van. 2008. *Flora Van Java*. Jakarta: PT. Pradnya Paramita.
- Stohs, Sidney J., Gilbert R. Kaats, dan Harry G. Preuss. 2016. Safety and Efficacy of Banaba- *Moringa Oleifera* -Green Coffee Bean Extracts and Vitamin D3 in a Sustained Release Weight Management Supplement: Safety of a Herbal Sustained Release Weight Management Supplement. *Phytotherapy Research* 30 (4): 681–88.
- Suseno, Jatmiko Endro, dan K Sofjan Firdausi. 2008. “Rancang Bangun Spektroskopi FTIR (Fourier Transform Infrared) untuk Penentuan Kualitas Susu Sapi” 11: 6.
- Suhendi, Andi. 2011. Isolasi Dan Identifikasi Flavonoid Dari Daun Dewandaru (*Eugenia uniflora* L.). *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia* 12 (2): 73–81.
- Sulistiyawati, Rini, Laela Hayu Nurani, Sholihatil Hidayati, Ahmad Mursyidi, dan Mustofa Mustofa. 2017. Standarisasi Kualitas Fraksi Etil Asetat Daun Kelor (*Moringa Oleifera* Lamk.). *Urecol*, 67–72.
- Sulistijowati, S.A & Gunawan, D. 2001. Efek Ekstrak Daun Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia* (Hemsley) A. Gray) Terhadap *Candida Albicans* Serta Profil Kromatografinya. *Cermin Dunia Kedokteran*.130:32-36.
- Surbakti, Putri Ayu Andany, Edwin De Queljoe, dan Widdhi Boddhi. 2018. Skrining Fitokimia Dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun. 7 (3): 10.
- Susanty, M Bahrul Islam, dan Yudistriani. 2019. Metode Ekstraksi Untuk Perolehan Kandungan Flavonoid Tertinggi Dari Ekstrak Daun Kelor. 8 (2): 6.
- Syofyan, Henny Lucida dan Amri Bakhtiar. 2008. Peningkatan Kelarutan Kuersetin Melalui Pembentukan Kompleks Inklusi dengan β -Siklodekstrin. *Jurnal Sains dan Teknologi*. Vol. 13 (2): 43-48.
- Vargas, Ashley J, dan Randy Burd. 2010. Hormesis and Synergy: Pathways and Mechanisms of Quercetin in Cancer Prevention and Management: Nutrition Reviews©, Vol. 68, No. 7. *Nutrition Reviews* 68 (7): 418–28.

- Vergara-Jimenez, Marcela, Manal Almatrafi, dan Maria Fernandez. 2017. Bioactive Components in Moringa Oleifera Leaves Protect against Chronic Disease. *Antioxidants* 6 (4): 91.
- Zaini, Ramlah. 2006. Isolasi Komponen Bioaktif Flavonoid Dari Tanaman Daun Dewa *Gynura pseudochina* (Lour) DC. 81.

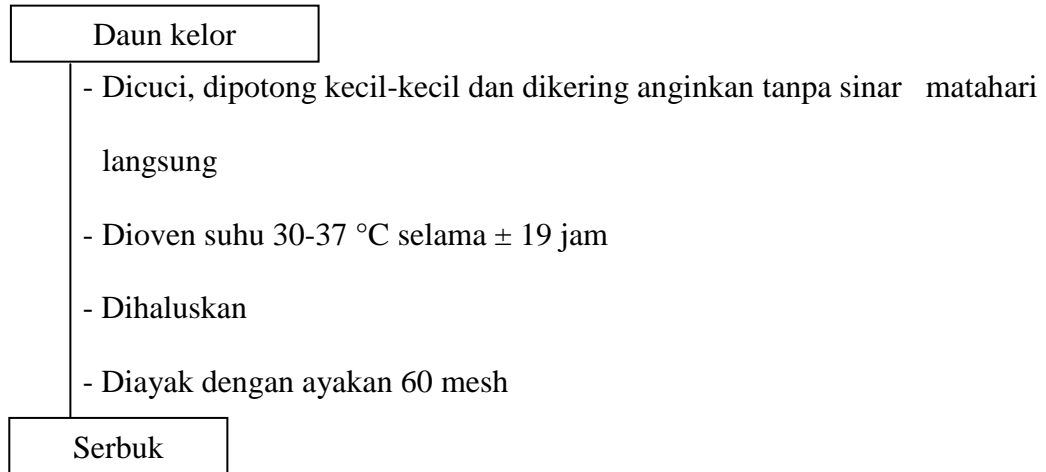
LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian

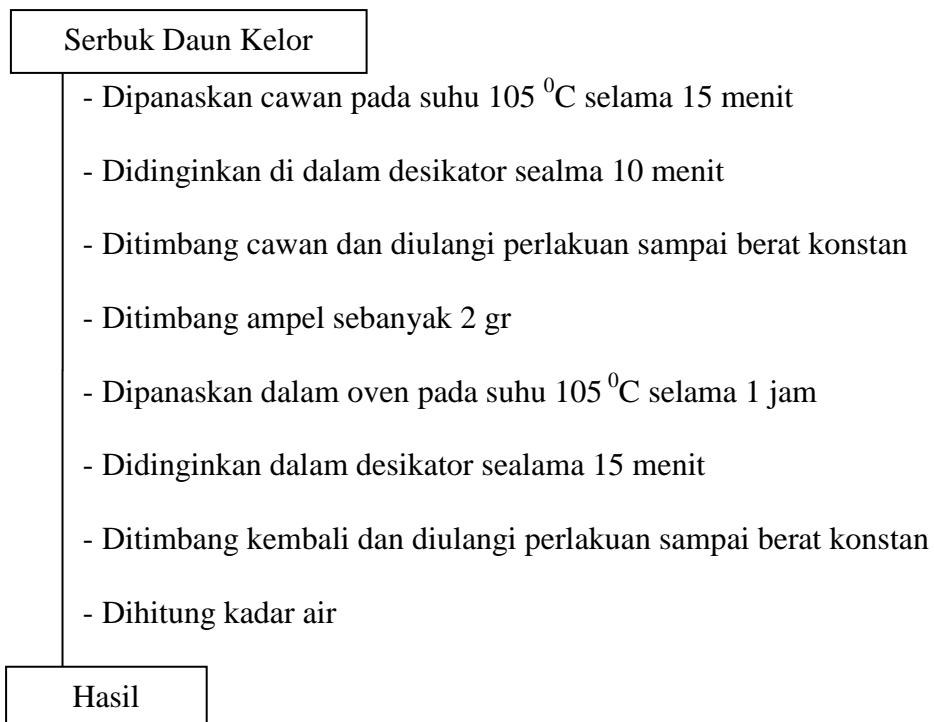


Lampiran 2 Diagram alir

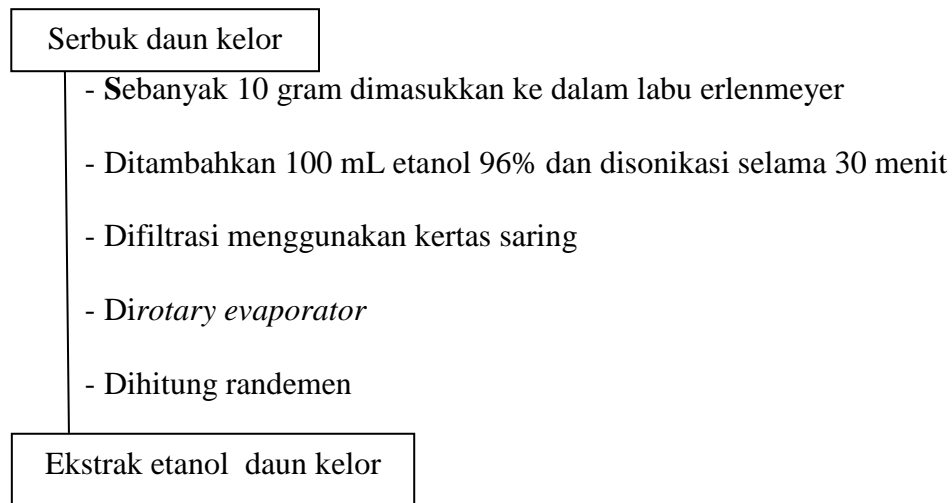
2.1. Preparasi sampel



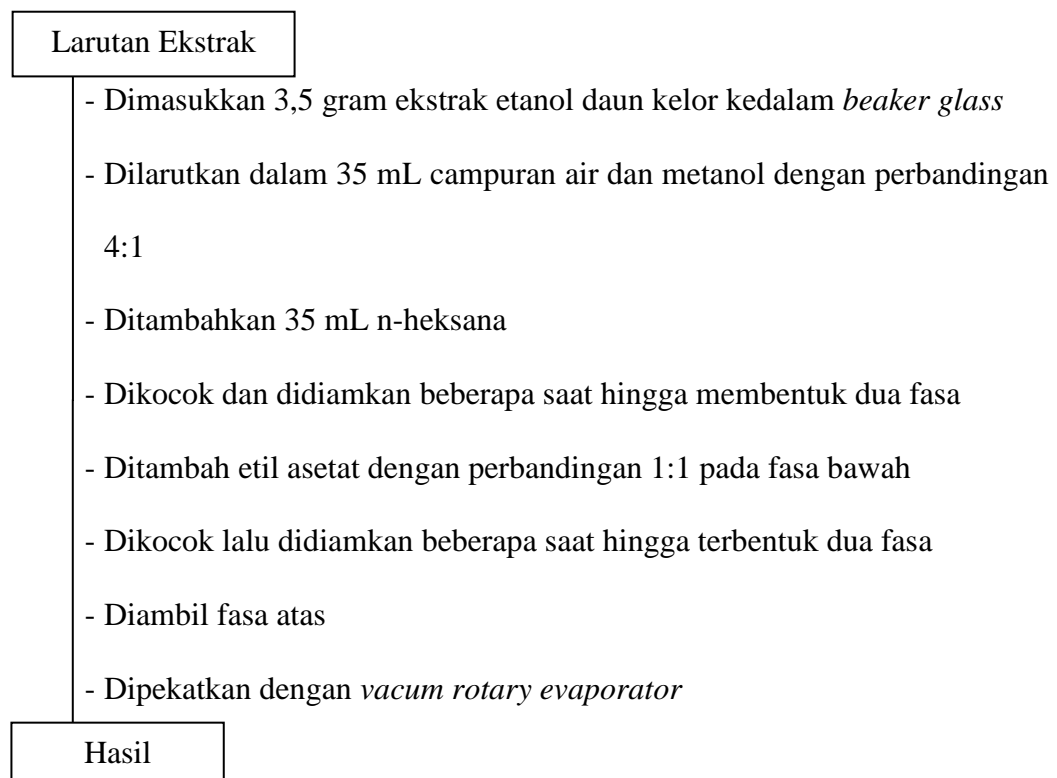
2.2. Analisis Kadar Air



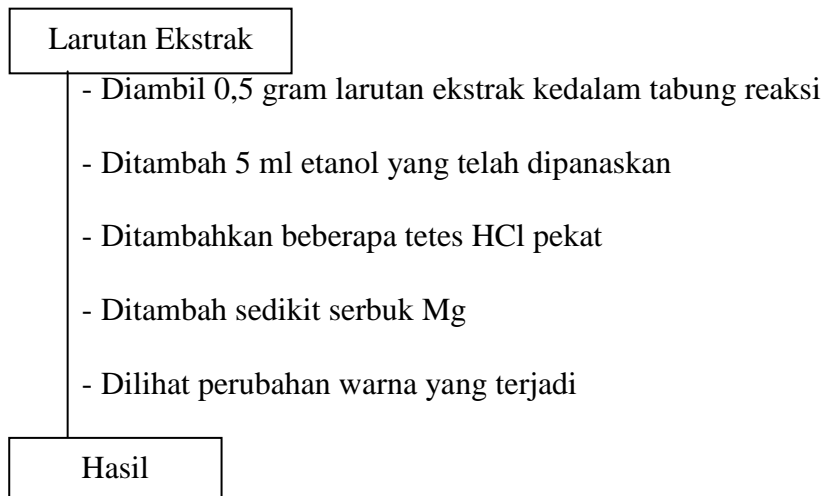
2.3. Ekstraksi Ultrasonik Serbuk Daun Kelor



2.4. Fraksinasi dengan Etil Asetat

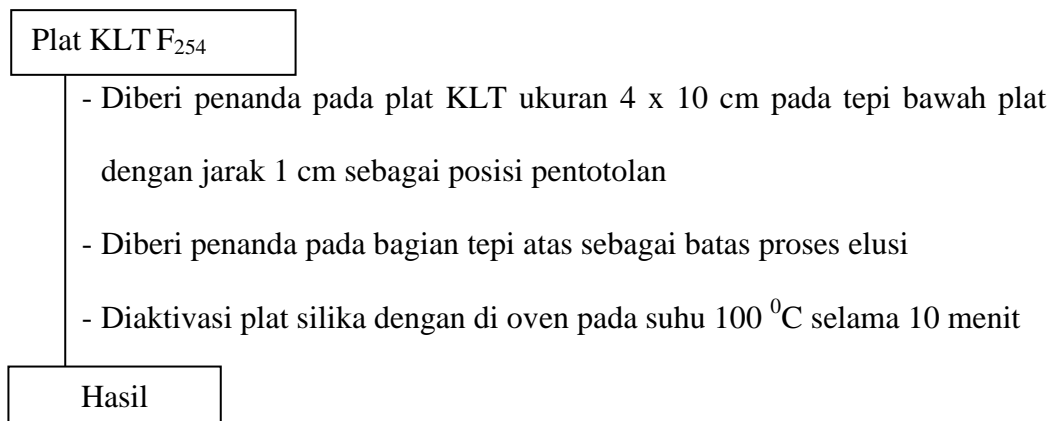


2.5. Uji Fitokimia Senyawa Flavonoid

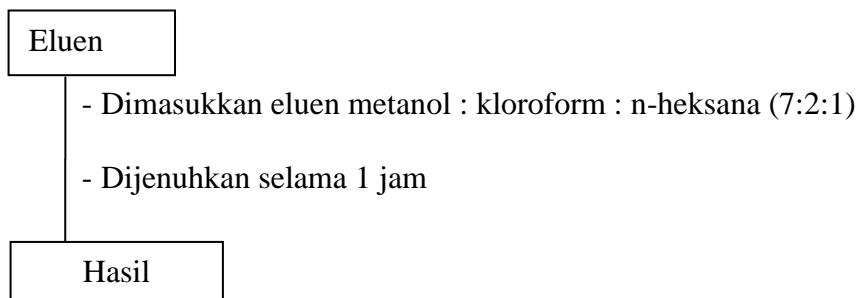


2.6. Pemisahan Senyawa quersetin

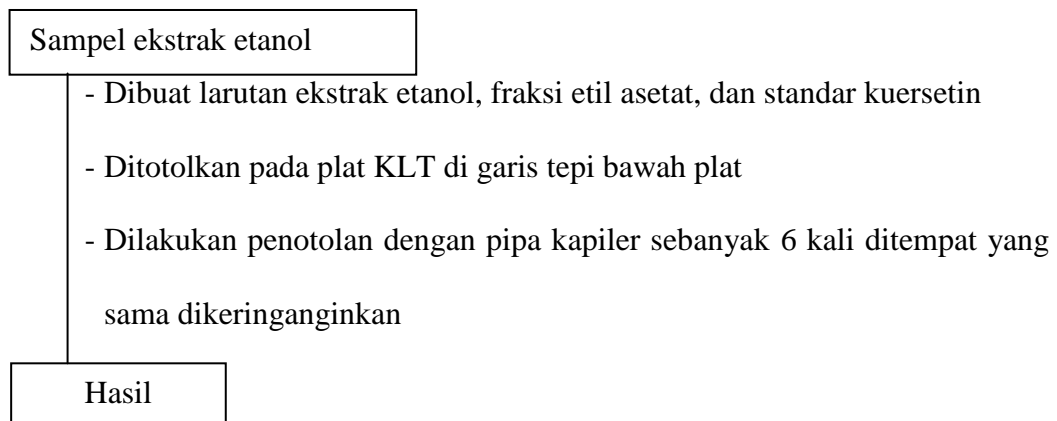
2.6.1. Persiapan Plat KLT



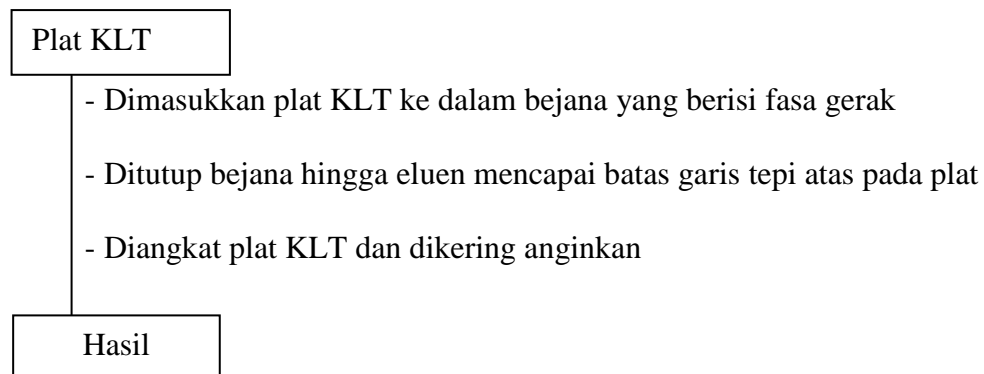
2.6.2. Persiapan Fasa gerak



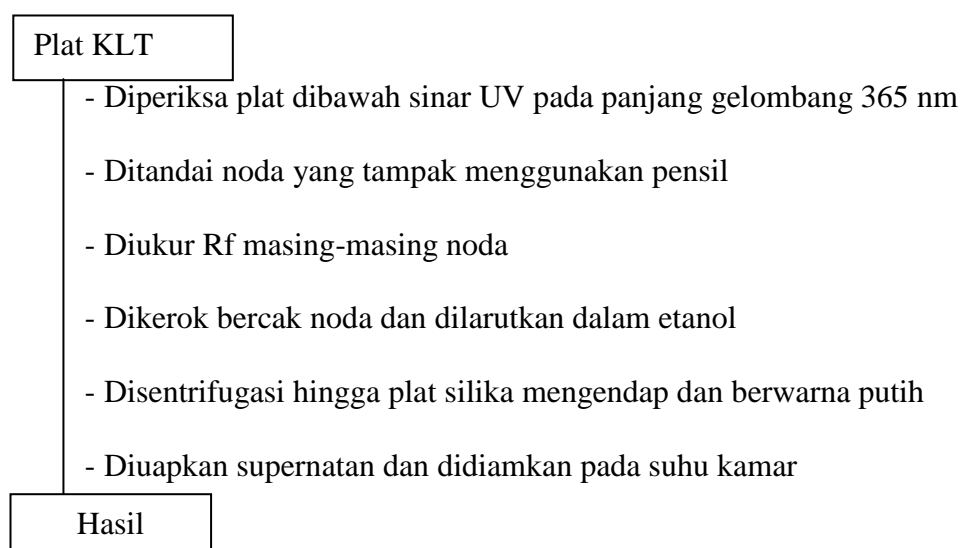
2.6.3. Penotolan Sampel



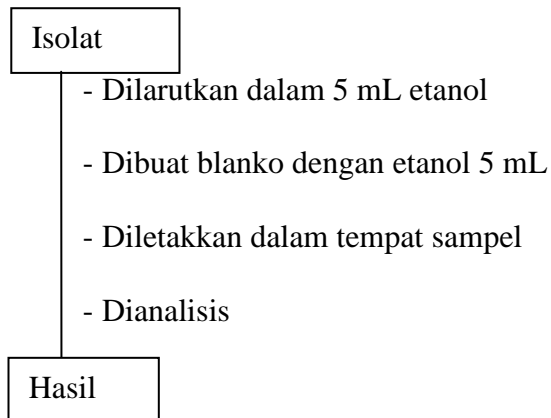
2.6.4. Proses Elusi



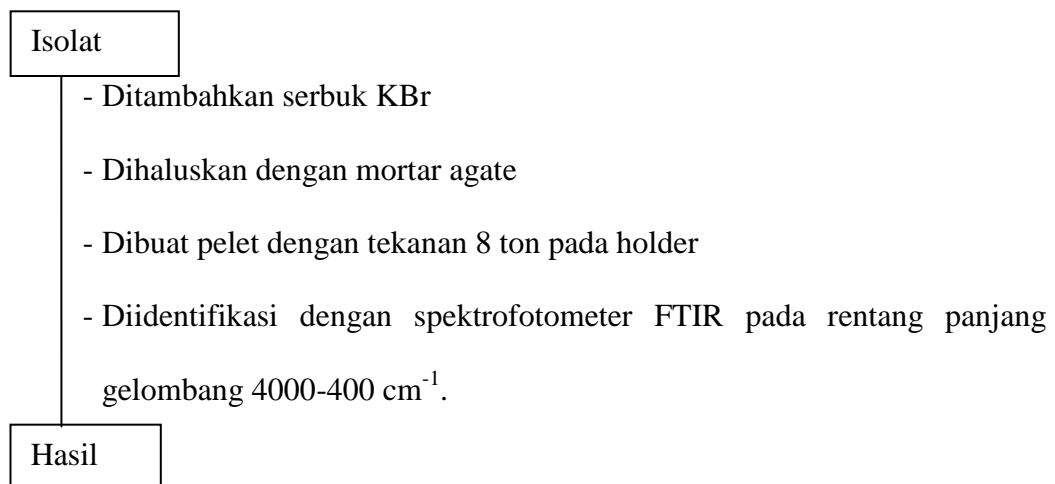
2.6.5. Identifikasi Noda



2.7 Identifikasi Senyawa Kuersetin dengan Spektrofotometer UV-Vis



2.8 Identifikasi Senyawa Kuersetin dengan Spektrofotometer FTIR



Lampiran 3. Perhitungan

3.1. Perhitungan Kadar Air

$$\text{Kadar Air (\%)} = \frac{b-c}{b-a} \times 100\%$$

Keterangan : a = bobot cawan kosong

b = bobot sampel + cawan sebelum dikeringkan

c = bobot cawan + sampel setelah dikeringkan

Cawan Kosong

Ulangan	Cawan 1 (g)	Cawan 2 (g)	Cawan 3 (g)	Cawan 4 (g)	Cawan 5(g)
Cawan kosong	44,2749	57,8847	57,2832	74,4369	66,0301
U1	44,2747	57,8845	57,2831	74,4367	66,0301
U2	44,2744	57,8843	57,2831	74,4365	66,0300
U3	44,2744	57,8841	57,2829	74,4363	66,0290
U4	44,2743	57,8841	57,2826	74,4360	66,0290

Cawan+Sampel

Ulangan	Cawan 1 (g)	Cawan 2 (g)	Cawan 3 (g)	Cawan 4 (g)	Cawan 5(g)
Sebelum dioven	46,2749	59,8847	59,2832	76,4369	68,0301
U1	46,2679	59,8756	59,2679	76,4001	68,0006
U2	46,2365	59,8566	59,2467	76,3821	67,9938
U3	46,2040	59,8193	59,2154	76,3569	67,9671
U4	46,1916	59,8041	59,2003	76,3439	67,9426

Cawan 1

$$\text{Kadar Air (\%)} = \frac{46,2749 - \mathbf{46,1916}}{46,2749 - \mathbf{44,2743}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,0833}{2,0006} \times 100\%$$

$$= 4,16\%$$

Cawan 2

$$\text{Kadar Air (\%)} = \frac{59,8847 - \mathbf{59,8041}}{59,8847 - \mathbf{57,8776}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,0806}{2,0071} \times 100\%$$

$$= 4,01\%$$

Cawan 3

$$\text{Kadar Air (\%)} = \frac{59,2832 - \mathbf{59,2003}}{59,2832 - \mathbf{57,2826}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,0829}{1,9997} \times 100\%$$

$$= 4,15\%$$

Cawan 4

$$\text{Kadar Air (\%)} = \frac{76,4369 - \mathbf{76,3439}}{76,4369 - \mathbf{74,4360}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,093}{2,0009} \times 100\%$$

$$= 4,62\%$$

Cawan 5

$$\text{Kadar Air (\%)} = \frac{68,0301 - 67,9426}{68,0301 - 66,0290} \times 100\%$$

$$= \frac{0,0875}{2,0011} \times 100\%$$

$$= 4,37\%$$

Rata-Rata Cawan

$$\text{Kadar Air (\%)} = \frac{4,16 + 4,01 + 4,15 + 4,62 + 4,37}{5}$$

$$= \frac{21,31}{5}$$

$$= 4,262\%$$

3.2. Perhitungan Rendemen

$$\text{Berat Ekstrak} = \text{Berat (Erlenmayer + Ekstrak)} - \text{Berat Erlenmayer Kosong}$$

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat sampel}} \times 100 \%$$

Rendemen Ekstrak

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Sampel}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,887}{10} \times 100\% = 8,87\%$$

Rendemen Fraksi Etil asetat

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat Fraksi}}{\text{Berat Sampel}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,143}{3,5} \times 100\% = 4,08\%$$

Ulangan	Berat Beaker + Ekstrak (gram)	Berat Beaker Kosong (gram)	Berat Ekstrak (gram)	Berat Serbuk (gram)	Rendemen (%)
1	126,7064	125,8237	0,8827	10	8,827
2	126,5187	125,6281	0,8906	10	8,906
3	126,2444	125,3571	0,8873	10	8,873
Rata-Rata			0,887		8,869

3.3. Nilai Rf

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh senyawa dari titik asal}}{\text{Jarak yang ditempuh pelarut dari titik asal}}$$

Sampel	Ulangan	Nomor Noda	Jarak Tempuh Noda (cm)	Jarak Tempuh Eluen (cm)	Rf
Ekstrak Kasar	1	1	3,9	8	0,487
		2	4,5	8	0,562
		3	5,3	8	0,662
		4	6,5	8	0,812
	2	1	3,9	8	0,487
		2	4,4	8	0,550
		3	5,3	8	0,662

		4	6,5	8	0,812
	3	1	4	8	0,500
		2	4,5	8	0,562
		3	5,4	8	0,675
		4	6,5	8	0,812
Fraksi Etil Asetat	1	1	4	8	0,500
		2	4,6	8	0,575
		3	5,5	8	0,687
		4	6,7	8	0,837
	2	1	4	8	0,500
		2	4,6	8	0,575
		3	5,5	8	0,687
		4	6,7	8	0,837
	3	1	4	8	0,500
		2	4,6	8	0,575
		3	5,5	8	0,687
		4	6,7	8	0,843
Standar Kuersetin	1	1	-	8	-
		2	-	8	-
		3	5,5	8	0,687
		4	-	8	-
	2	1	-	8	-
		2	-	8	-
		3	5	8	0,625
		4	-	8	-
	3	1	-	8	-
		2	-	8	-

		3	5,4	8	0,675
		4	-	8	-

Lampiran 4 Dokumentasi

4.1 Preparasi Sampel Daun Kelor



Gambar 1. Daun Kelor



**Gambar 2.
Pengovenan daun
kelor**



**Gambar 3. Serbuk
Daun Kelor**

4.2 Ekstraksi Ultrasonik



**Gambar 4. Ekstraksi
Ultrasonik**



**Gambar 5. Campuran daun kelor
dan etanol**



**Gambar 6. Filtrat ekstrak
kasar daun kelor**

4.3 Uji Fitokimia Flavonoid



Gambar 7. Larutan ekstrak kasar



Gambar 8. Setelah uji flavonoid

4.4 Fraksinasi



Gambar 9. Ekstrak dengan penambahan metanol : air (4:1)



Gambar 10. Penambahan n-Heksana



Gambar 11. Campuran larutan n-Heksana (atas) dan ekstrak pada fase air (bawah)



Gambar 12. Campuran larutan fasa etil asetat (atas) dan fasa air (bawah)

4.5 Kromatografi Lapis Tipis



Gambar 13. Ekstrak kasar, fraksi etil asetat, dan standar kuersetin



Gambar 14. Proses elusi KLT



Gambar 15. Standar kuersetin tanpa lampu UV



Gambar 16. Sebelum di semprot reagen



Gambar 17. Setelah disemprot reagen



Gambar 18. Ekstrak kasar tanpa lampu UV



Gambar 19. Sebelum disemprot reagen



Gambar 20. Setelah disemprot reagen



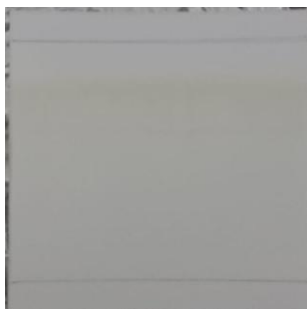
Gambar 21. Fraksi etil asetat tanpa lampu UV



Gambar 22. Sebelum disemprot reagen

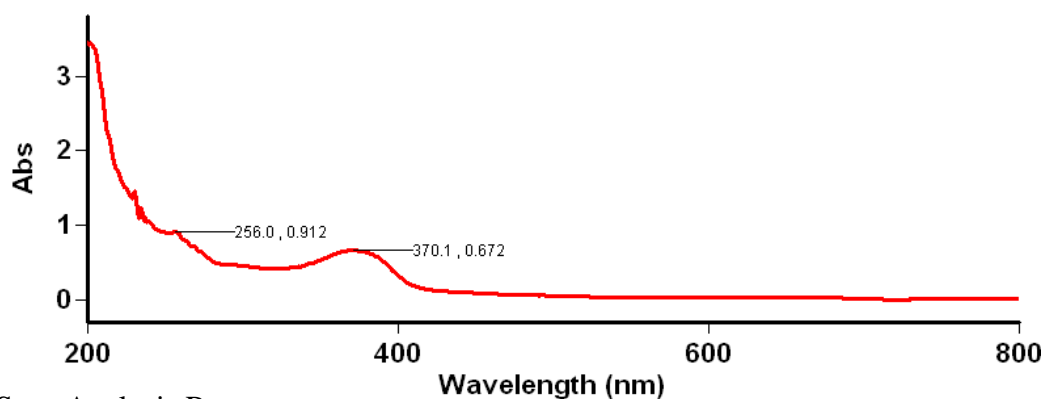


Gambar 23. Setelah disemprot reagen



**Gambar 24. KLTP
fraksi etil asetat tanpa
lampu UV**

4.6 Identifikasi Spektrofotometri UV-Vis



Scan Analysis Report

Report Time : Thu 30 Jul 11:15:22 AM 2020

Method:

Batch: D:\Putri Kurnia\Lamdha Maks Isolat Quercetin (30-07-2020).DSW

Software version: 3.00(339)

Operator: Rika

Sample Name: Isolat Quercetin

Collection Time 7/30/2020 11:16:02 AM

Peak Table

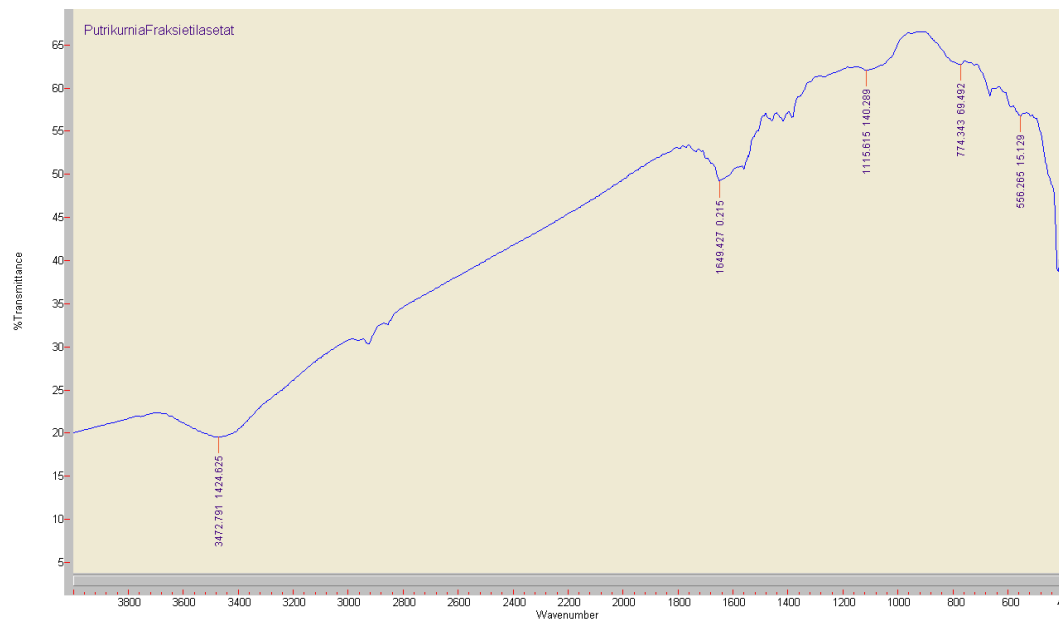
Peak Style	Peaks
Peak Threshold	0.0100
Range	800.0nm to 200.0nm

Wavelength (nm)	Abs
-----------------	-----

370.1	0.672
256.0	0.912

4.7 Identifikasi FTIR

1.7.1. Isolat Fraksi etil Asetat



1.7.2. Standar kuersetin

